



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE CEPAS DE *SALMONELLA*
SPP. AISLADAS EN CARNE DE RES EN EL CENTRO DE LA REPÚBLICA
MEXICANA**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**PRESENTA:
CARLOS MARIO CAMPOS GRANADOS**

**TUTORA:
DRA. MARÍA SALUD RUBIO LOZANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**COMITÉ TUTOR:
DR. ENRIQUE JESÚS DELGADO SUÁREZ
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DRA. LUISA MARÍA SÁNCHEZ ZAMORANO
DIRECCIÓN DE ENFERMEDADES CRÓNICAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN SALUD POBLACIONAL
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	ii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	6
1. Género <i>Salmonella</i>	6
2. Importancia de <i>Salmonella</i> en la salud pública.....	7
3. Resistencia a antibióticos.....	10
3.1 <i>Mecanismos de resistencia natural o intrínseca</i>	13
3.2 <i>Mecanismos de resistencia adquirida</i>	15
3.2.1 <i>Resistencia adquirida por mutaciones en el cromosoma</i>	15
3.2.2 <i>Resistencia mediada por la adquisición de material genético externo</i>	16
3.2.3 <i>Genes involucrados en la resistencia adquirida</i>	17
4. Resistencia a antibióticos en <i>Salmonella</i> spp.....	20
OBJETIVO GENERAL	23
METODOLOGÍA	23
1. Diseño del estudio.....	23
2. Cálculo de tamaño de muestra.....	23
3. Toma de muestras.....	24
4. Análisis microbiológicos.....	25
4.1 <i>Aislamiento de cepas de Salmonella</i>	25
4.2 <i>Caracterización bioquímica de las cepas de Salmonella</i>	25
4.3 <i>Confirmación molecular de las cepas de Salmonella</i>	27
4.4 <i>Determinación fenotípica de resistencia a antibióticos de cepas de Salmonella</i>	27
5. Secuenciación del genoma completo y predicción de serotipos.....	31
6. Evaluación de la calidad y depuración de las lecturas crudas.....	31
7. Ensamble y anotación del genoma.....	32
8. Perfiles genotípicos de resistencia a antibióticos y genómica comparativa.....	32
9. Perfil de plásmidos.....	32
10. Análisis filogenéticos.....	33

11. Análisis estadístico.....	33
RESULTADOS	35
1. Frecuencia de contaminación con <i>Salmonella</i>	35
2. Perfil fenotípico de resistencia a antibióticos de <i>Salmonella</i>	36
3. Perfil genotípico de resistencia a antibióticos de <i>Salmonella</i>	42
3.1 Resistencia a betalactámicos.....	47
3.2 Resistencia a fluoroquinolonas.....	48
3.3 Resistencia a macrólidos.....	49
3.4 Resistencia a tetraciclinas.....	50
3.5 Resistencia a fenicoles.....	50
3.6 Resistencia a aminoglucósidos.....	50
3.7 Resistencia a sulfonamidas.....	51
3.8 Resistencia a antimicrobianos no evaluados en el panel de resistencia fenotípica.....	51
3.9 Perfil de plásmidos.....	52
3.10. Perfil de integrones y MDR.....	56
4. Filogenia de las cepas de <i>Salmonella</i>	58
DISCUSIÓN	61
CONCLUSIONES	70
REFERENCIAS	71
ANEXOS	93

DEDICATORIA

*A **Dios** y a la **Virgencita de los Ángeles**, a mis padres **Carlos y Odilié**, a mis hermanas **Johanna y María Fernanda** y a todas aquellas personas que de una u otra forma han sido partícipes de mi proceso formativo, tanto a nivel académico y profesional, pero principalmente a nivel personal.*

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por el don de la vida y la salud, y por permitirme vivir esta experiencia de formación.

A **mis padres y a mis hermanas**, por ser luz en mi vida, por su amor, apoyo incondicional, sus consejos y por estar ahí siempre que los he necesitado. Son mi motor para seguir todos los días.

A mi tutora, la doctora **María de la Salud Rubio Lozano** y al doctor **Danilo Méndez Medina**, por su guía y su apoyo incondicional en todo este proceso formativo y principalmente por su amistad, la cual valoro muchísimo.

A mi comité tutor, el doctor **Enrique Delgado Suárez** y la doctora **Luisa María Sánchez Zamorano**, por su apoyo y colaboración durante todo el proceso de formación y la elaboración de esta tesis.

A la **Universidad de Costa Rica** en la figura de la Oficina de Asuntos Internacionales y Cooperación Externa, por el apoyo financiero y logístico para poder realizar mis estudios de posgrado en el exterior.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, al **Instituto Nacional de Salud Pública (INSP)** y al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el apoyo financiero y logístico para la realización de esta tesis.

Al **Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)** por el apoyo brindado en la realización de los análisis de secuenciación.

A todos mis **compañeros del Laboratorio de Investigación de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia** por su amistad y apoyo incondicional durante mi proceso formativo y por ser actores claves en la realización de esta tesis.

¡GRACIAS TOTALES!

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Frecuencia de contaminación con <i>Salmonella</i> en productos de origen bovino en el mundo.....	8
Cuadro 2. Lista de patógenos resistentes prioritarios para la OMS.....	10
Cuadro 3. Lista de antibióticos de importancia para la OMS según categoría de prioridad.....	11
Cuadro 4. Perfiles de resistencia a antibióticos de cepas de <i>Salmonella</i> en productos de origen bovino en el mundo.....	22
Cuadro 5. Distribución de las muestras de acuerdo con la entidad federativa de procedencia.....	24
Cuadro 6. Resultados esperados para la confirmación bioquímica de <i>Salmonella</i> mediante las pruebas de TSI, LIA y urea.....	26
Cuadro 7. Panel de antibióticos a utilizar en la prueba de resistencia fenotípica a antibióticos y los respectivos criterios para clasificación de cepas de <i>Salmonella</i> resistentes.....	29
Cuadro 8. Panel de antibióticos a utilizar en la prueba de resistencia fenotípica a antibióticos y los respectivos criterios para cepas control de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	30
Cuadro 9. Frecuencia absoluta de los serotipos de <i>Salmonella</i> encontrados en las capitales de cada entidad federativa que participó en el estudio.....	36
Cuadro 10. Fenotipos de resistencia a antibióticos encontrados en las cepas de <i>Salmonella</i> aisladas de carne de res.....	38
Cuadro 11. Mutaciones puntuales encontradas y genes que las contenían en las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	46
Cuadro 12. Características generales de los plásmidos predichos en los aislamientos de <i>Salmonella</i> y su distribución por serotipo.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de los resultados esperados para la confirmación bioquímica de <i>Salmonella</i>	26
Figura 2. Frecuencia de contaminación con <i>Salmonella</i> para cada entidad federativa estudiada.....	35
Figura 3. Frecuencia relativa de cepas de <i>Salmonella</i> resistentes a cada antibiótico evaluado.....	37
Figura 4. Frecuencia relativa de cepas de <i>Salmonella</i> multi-resistentes, no multi-resistentes y susceptibles para cada entidad federativa estudiada.....	41
Figura 5. Frecuencia relativa de cepas de <i>Salmonella</i> multi-resistentes, no multi-resistentes y susceptibles para cada serotipo estudiado.....	42
Figura 6. Mapa de calor que muestra el perfil genotípico de resistencia a antibióticos de las cepas de <i>Salmonella</i>	43
Figura 7. Diversidad de genes de resistencia a antibióticos (AGRd) de las cepas de <i>Salmonella</i> obtenida para cada clase de antibiótico.....	44
Figura 8. Representación esquemática de la correlación entre genotipos predichos de RAM y fenotipos observados de RAM en las cepas de <i>Salmonella</i>	45
Figura 9. Análisis de atlas de BLAST del plásmido pHAD28 de 12 cepas de distintos serotipos.....	53
Figura 10. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R478 de 5 cepas de distintos serotipos.....	54
Figura 11. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R64 de 2 cepas de distintos serotipos.....	55
Figura 12. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R621a de 1 cepa del serotipo Anatum.....	56
Figura 13. Representación gráfica de un integrón de clase 1 presente en una cepa del serotipo Anatum y con perfil fenotípico de MDR.....	57
Figura 14. Representación gráfica de un integrón de clase 2 presente en una cepa del serotipo Rissen y con perfil fenotípico de MDR.....	57
Figura 15. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en SNPs de los 109 genomas de los distintos serotipos encontrados en las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	59
Figura 16. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en SNPs de un representante de cada serotipo encontrado en el estudio y de 17 cepas aisladas de casos clínicos en México.....	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Halos de inhibición de la prueba de susceptibilidad a antibióticos por el método de difusión por disco para las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	93
Anexo 2. Frecuencia absoluta y relativa de cepas resistentes por antibiótico evaluado y de cepas multirresistentes para cada serotipo encontrado.....	96
Anexo 3. Control de calidad del ensamble de las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	97
Anexo 4. Identificación y datos de subida al NCBI de las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	100
Anexo 5. Distribución por serotipo de los genes de resistencia encontrados en los genomas de las cepas de <i>Salmonella</i> bajo estudio.....	103
Anexo 6. Datos de las 17 cepas de <i>Salmonella</i> aisladas en casos clínicos en México obtenidas de la base de datos del NCBI.....	105

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de contaminación con *Salmonella* spp. (de aquí en adelante referida como *Salmonella*) y el fenotipo y genotipo de resistencia a antibióticos (RAM) de aislamientos obtenidos a partir de carne molida de res que se expende en las capitales de ocho estados del centro de la República Mexicana (Cuernavaca, Toluca, Ciudad de México, Querétaro, Tlaxcala, Puebla, Pachuca y Chilpancingo). Se recolectaron 115 muestras, entre mayo y octubre de 2021, las cuales se sometieron a análisis de aislamiento, confirmación bioquímica y molecular de *Salmonella*. A los aislamientos obtenidos (109) se les determinó el perfil de susceptibilidad a antibióticos mediante la prueba de difusión de disco con un panel de 12 antibióticos de siete clases diferentes. Además, se llevó a cabo la secuenciación completa del genoma de estas cepas y se utilizaron los genomas ensamblados para realizar la predicción *in silico* de los determinantes genéticos de RAM y los plásmidos que portaban los aislamientos, así como para análisis filogenéticos. Aunque la frecuencia global de contaminación con *Salmonella* fue de 41.7%, esta varió según la zona geográfica ($X^2=24.2$, $P=0.0021$). La probabilidad de encontrar muestras positivas fue mayor en Cuernavaca (80%) y en Toluca (70%) que en el resto de los sitios muestreados (10-50%): razón de posibilidades 25.5, intervalo de confianza al 95% 2.21-299.32 ($P=0.0016$). Se encontraron 18 serotipos diferentes, siendo Anatum (23.9%), Adelaide (11%) y Newport (11%) los predominantes. Se detectó RAM fenotípica para diez de los 12 antibióticos analizados, siendo tetraciclina (41.3%), cloranfenicol (39.4%), estreptomina (38.5%) y trimetoprima-sulfametoxazol (32.1%) los más afectados. Alrededor del 40% de las cepas resultaron multi-drogo resistentes (MDR). Entre estas, el fenotipo más frecuente (9/44) fue el de penta-resistencia contra ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol, estreptomina y trimetoprima-sulfametoxazol. Se encontró una alta correlación ($r=0.98$, $P<0.0001$) entre los genotipos y los fenotipos de RAM. La diversidad global de genes de RAM fue de 13, mientras que el mayor número de alelos estuvo asociado con la resistencia a aminoglucósidos (*aph*, *aadA*, *aac*). Se detectaron cuatro plásmidos entre las cepas bajo estudio, aunque solo uno de estos (pHAD28) portaba un gen de resistencia (*qnrB19*). La filogenia mostró que hay una gran cercanía genética intra y entre serotipos, independientemente de su perfil de RAM (MDR o no), así como entre cepas del estudio y cepas involucradas en infecciones humanas en

México. Se concluye que la carne de res molida que se expende en las capitales estatales de la región central de México es un reservorio relevante de *Salmonella* spp. Una proporción moderada de las cepas que circulan en este nicho ecológico manifiesta fenotipos MDR y son genéticamente cercanas a cepas causantes de casos clínicos en humanos. Lo anterior refuerza la necesidad de desarrollar medidas para prevenir la contaminación de la carne con *Salmonella* MDR y prevenir su posterior diseminación en las cadenas productivas.

Palabras clave: *Salmonella* spp., carne, resistencia, fenotipo, genotipo.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the frequency of contamination with *Salmonella* spp. (hereinafter referred to as *Salmonella*) and the phenotype and genotype of antibiotic resistance (AMR) of isolates obtained from ground beef sold in the capitals of eight states in the center of the Mexican Republic (Cuernavaca, Toluca, Mexico City, Querétaro, Tlaxcala, Puebla, Pachuca, and Chilpancingo). 115 samples were collected between May and October 2021, which were subjected to analysis of isolation, biochemical and molecular confirmation of *Salmonella*. The antibiotic susceptibility profile of the isolates obtained (109) was determined using the disk diffusion test with a panel of 12 antibiotics from seven different classes. In addition, whole genome sequencing of these strains was carried out and the assembled genomes were used for *in silico* prediction of AMR genetic determinants and plasmids carried by the isolates, as well as for phylogenetic analyses. Although the global frequency of contamination with *Salmonella* was 41.7%, it varied according to geographical area ($X^2=24.2$, $P=0.0021$). The probability of finding positive samples was higher in Cuernavaca (80%) and Toluca (70%) than in the rest of the sampled sites (10-50%): odds ratio 25.5, 95% confidence interval 2.21-299.32 ($P=0.0016$). Eighteen different serotypes were found, being Anatum (23.9%), Adelaide (11%) and Newport (11%) the predominant ones. Phenotypic AMR was detected for ten of the 12 antibiotics analyzed, being tetracycline (41.3%), chloramphenicol (39.4%), streptomycin (38.5%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (32.1%) the most affected. About 40% of the strains were multi-drug resistant (MDR). Among these, the most frequent phenotype (9/44) was penta-resistance against ampicillin, tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole. A high correlation ($r=0.98$, $P<0.0001$) was found between AMR genotypes and

phenotypes. The global diversity of AMR genes was 13, while the highest number of alleles was associated with resistance to aminoglycosides (*aph*, *aadA*, *aac*). Four plasmids were detected among the strains under study, although only one of these (pHAD28) carried a resistance gene (*qnrB19*). The phylogeny showed that there is a great genetic closeness within and between serotypes, regardless of their AMR profile (MDR or not), as well as between the study strains and strains involved in human infections in Mexico. It is concluded that the ground beef that is sold in the state capitals of the central region of Mexico is a relevant reservoir of *Salmonella* spp. A moderate proportion of strains circulating in this ecological niche manifest MDR phenotypes and are genetically close to strains causing clinical cases in humans. The foregoing reinforces the need to develop measures to prevent contamination of meat with *Salmonella* MDR and prevent its subsequent dissemination in production chains.

Keywords: *Salmonella* spp., meat, resistance, phenotype, genotype.

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis no tifoidea transmitida por alimentos es una de las principales preocupaciones de salud pública a escala global (CDC, 2016); con cerca de 93.8 millones de casos anuales y 155 mil muertes (Ngogo et al., 2020). En México, la incidencia de salmonelosis en la última década (> 60 casos / 100 mil habitantes) es al menos tres veces superior a la de países desarrollados, lo que resalta la importancia epidemiológica de este patógeno en el país (Delgado-Suárez et al., 2021).

Se ha establecido que la carne de diferentes especies, entre ellas la de bovino, es un reservorio importante de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (SE) (Ma et al., 2018). Entre los años 2012 y 2015, la carne de res estuvo involucrada en varios brotes de infecciones por *Salmonella* en Estados Unidos y Canadá, por lo que es considerada un foco importante para la transmisión de este patógeno (CDC, 2016), y en México, para el año 2019 se reportaron más de 114 000 casos de salmonelosis (Dirección General de Epidemiología, 2020), lo que implica que es también el género de mayor importancia.

Lo anterior cobra mayor relevancia ante el incremento de la resistencia a antibióticos que se observa en varios agentes infecciosos y por supuesto a la emergencia de cepas de *Salmonella* resistentes a múltiples antibióticos (MDR, por sus siglas en inglés), lo cual representa un desafío adicional para la salud pública mundial, al incrementarse la dificultad y el costo de los tratamientos de infecciones causadas por cepas MDR (Caratolli, 2008; Almeida et al, 2018; Ma et al., 2018; Abraham et al., 2022).

Algunos autores coinciden en la importancia de prevenir las infecciones causadas por cepas MDR, por las dificultades asociadas con el tratamiento y el costo de estas (Caratolli, 2008; Almeida et al, 2018; Ma et al., 2018; Abraham et al., 2022). Numerosos trabajos han demostrado que existe una frecuencia cada vez mayor de contaminación con cepas de SE MDR en alimentos de origen animal y en especial de carne bovina (Pond et al., 2016; Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Delgado-Suárez et al., 2018; Delgado-Suárez et al., 2019; de la Garza-García et al., 2020; Palós et al., 2020; Delgado-Suárez et al., 2021), pero son pocas las

investigaciones que estudian el fenómeno de resistencia fenotípica a antimicrobianos en relación con la identificación de genes de resistencia a antibióticos en genomas completos, y esta estrategia de relacionar fenotipos con genotipos, puede contribuir a identificar los factores involucrados en la emergencia y la diseminación de la resistencia a antibióticos, así como a delinear medidas de control para prevenirlas.

Este trabajo pretende abordar de manera conjunta el estudio de los fenotipos y genotipos de resistencia de *Salmonella* en México a nivel regional, de manera tal que esta información sea de utilidad para identificar las clases de antibióticos que están perdiendo su efectividad contra SE, así como los factores genéticos involucrados en la resistencia a antibióticos, su potencial de diseminación y las alternativas de control a tomar para contener el fenómeno de la resistencia a antibióticos en este importante patógeno transmitido por alimentos.

ANTECEDENTES

1. Género *Salmonella*

El género *Salmonella* representa un grupo de bacterias de tipo bacilo Gram negativo que forma parte de la familia Enterobacteriaceae (Jawetz et al., 2005). Considerado un microorganismo intracelular facultativo, aerobio o anaerobio facultativo. Son bacterias oxidasa negativas y no esporuladas, crecen a temperatura máxima de 45. 6°C y se desarrollan en un rango de pH de 6.6 a 8.2 (Jawetz et al., 2005).

La mayoría de las bacterias del género *Salmonella* son lactosa-negativas, móviles, pueden medir entre 0.7 y 5 µm y producen gas por fermentación de carbohidratos, especialmente glucosa, con excepción de las serovariedades Typhi, Gallinarum y Pullorum. Además, *Salmonella* produce catalasa y da negativo en la prueba de citocromo oxidasa, reduce nitratos a nitritos y tolera altas concentraciones de sales biliares (Jawetz et al., 2005).

Los organismos que componen este género son cercanos genéticamente, pues comparten más de 2800 de los aproximadamente 5000 genes que codifican proteínas en su genoma (Jacobsen et al., 2011), sin embargo, poseen características fenotípicas muy diversas y por ello, su taxonomía y nomenclatura fueron motivo de controversia durante décadas.

La aplicación de técnicas moleculares permitió llegar a un consenso, debido a que se logró demostrar que el género cuenta únicamente con dos especies: *S. bongori* y *S. enterica* (Tindall et al., 2005). La primera tiene como hábitat principal el ambiente y los animales de sangre fría, por lo que es de poca relevancia en términos de salud pública y la segunda, que, si es de importancia para la salud pública, puede dividirse en 6 subespecies según el perfil genotípico: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtebae* e *indica* (Grimont y Weill, 2007).

Entre estas subespecies la *enterica* es la más importante en términos de inocuidad de alimentos y de salud pública, pues a esta corresponde el 99.5% de las cepas aisladas (Grimont y Weill, 2007).

Para la diferenciación de fenotipos, el esquema de Kauffman-White es el más utilizado, pues clasifica a los organismos por sus antígenos: somáticos, capsulares y flagelares (Gutiérrez et al., 2008), llegando a describir hasta 30 serogrupos y más de 2500 serotipos (Grimont y Weill, 2007).

También existe una clasificación que las agrupa dependiendo del grado de adaptación a un hospedero: serotipos adaptados al hombre (Typhi, Paratyphi A, B, C y Sendai); serotipos adaptados a animales (Pullorum, Gallinarum, Abortus-ovis, Abortus-equi, Choreleasuis y Dublín); y no adaptados a hospederos específicos, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos (Enteritidis, Typhimurium, Newport y Javiana) (CDC, 2016).

2. Importancia de *Salmonella* en la salud pública

Cada año el 10% de la población mundial sufre de alguna enfermedad de transmisión alimentaria (550 millones de casos), siendo *Salmonella* responsable de 93 millones de casos (Ngogo et al., 2020).

Se han descrito 3 formas clínicas de salmonelosis en el ser humano, las cuales pueden ser gastroenteritis autolimitante (65 millones de personas al año), fiebre entérica (8-10 millones de personas al año) y la enfermedad invasiva sistémica (11-20 millones de personas al año) (Caballero, 2007; Ma et al., 2018; Ngogo et al., 2020).

La fuente más frecuente de contaminación con *Salmonella* es la ingestión de alimentos contaminados (Caballero, 2007; Caffer et al., 2008; Chuard, 2015; Weiler et al., 2017). El Cuadro 1 expone los resultados de diversos estudios a nivel global sobre la frecuencia de contaminación con *Salmonella* en canales, carne y heces de bovinos de abasto. Las diferencias en transporte, almacenamiento, preparación y manipulación se manifiestan en los amplios rangos encontrados (Poppe et al., 1998; Wray y Wray, 2000).

Cuadro 1. Frecuencia de contaminación con *Salmonella* en productos de origen bovino en el mundo.

País	Producto	Frecuencia de contaminación (n)	Principales serotipos	Referencia
Irlanda	Canales y carne molida	0.25%-3.0% (900)	Dublin, Braenderup	Khen et al. (2014)
Polonia	Carne	20.5% (170)	Derby, Indiana, Infantis	Plawińska-Czarnak et al. (2022)
Letonia	Carne cruda y cocinada	0.8% (3152)	Typhimurium, Derby, Enteritidis	Terentjeva et al. (2017)
Australia	Heces	14.4%-18.4% (1001-1500)	Typhimurium, Anatum, Saintpaul	Barlow et al. (2015), Abraham et al. (2022)
Nueva Zelanda	Heces	8.7% (2812)	Typhimurium, Brandenburg, Hindmarsh	Lawrence et al. (2019)
Vietnam	Carne	7.3%-53.3% (180-357)	London, Kentucky, Typhimurium	Van et al. (2007), Nhung et al. (2018)
Irán	Carne molida	34.0% (100)	-	Rajaei et al. (2021)
Malasia	Carne	9.6% (240)	Enteritidis, Typhimurium, Agona	Thung et al. (2018)
China	Carne	7%-13.3% (120-1414)	Hadar, Enteritidis, Typhimurium	Yin et al. (2016), Wang et al. (2021)
Egipto	Carne	8.2%-68.1% (180-1600)	Typhimurium, Enteritidis, Infantis	Ahmed et al. (2014), Moawad et al. (2017)
Uganda	Carne	54.3% (35)	-	Onohuean y Igere (2022)
Etiopía	Carne, canales, heces	2.3%-36.4% (132-668)	Typhimurium, Saintpaul, Kentucky	Eguale et al. (2016), Hiko et al. (2018), Geresu y Desta (2021)
Venezuela	Canales, heces	52.5% (240)	Saintpaul, Javiana	Narváez-Bravo et al. (2013)
Brasil	Carne seca	6.2% (65)	Typhimurium	Pereira-Fernandes et al. (2017)
Estados Unidos	Linfonodos, carne molida, heces	2.6%-8.2% (958-9162)	Typhimurium, Dublin, Newport	Webb et al. (2017), Davidson et al. (2018), Lee et al. (2022)
Canadá	Canales y carne molida	0.8%-23% (564-2112)	Hadar, Typhimurium, Heidelberg	Bohaychuk et al. (2011), Aslam et al. (2012)
México	Carne molida, canales, linfonodos	5%-16% (100-1545)	Derby, Montevideo, Anatum	Nayarit-Ballesteros et al. (2016), de la Garza-García et al. (2020), Palós-Gutiérrez et al. (2020)

*(n): corresponde al total de muestras del estudio.

De la información expuesta en el Cuadro 1, se confirma que los productos de origen bovino son importantes reservorios de *Salmonella* a nivel mundial. Las diferencias encontradas entre países se pueden atribuir a variaciones regionales en términos de prácticas productivas, de matanza y faenado, así como del manejo durante su venta y distribución (Caballero, 2007; Caffer et al., 2008, Weiler et al., 2017; Chuard, 2015).

Dada la importancia que tienen estos hallazgos, la OMS (Organización Mundial de la Salud) estableció una lista de los agentes patógenos de importancia y que generan preocupación entre la comunidad científica y médica (Jiménez-Pearson et al., 2019). *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp., son algunos de los microorganismos que en los últimos tiempos han demostrado mayores niveles de resistencia a diversas generaciones de antibióticos y que ponen en riesgo la salud de la población, pues han demostrado resistencia a múltiples antibióticos en diferentes estudios realizados a nivel mundial (Jiménez-Pearson et al., 2019).

La lista de patógenos prioritarios para la OMS se elaboró con el apoyo de la División de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Tübingen (Alemania), utilizando técnicas de análisis de decisiones de múltiples criterios desarrollada por un grupo de expertos internacionales (Jiménez-Pearson et al., 2019).

Los criterios para incluir patógenos en la lista son: grado de letalidad de las infecciones que provocan; el hecho de que el tratamiento requiera o no hospitalización prolongada; la frecuencia con que presentan resistencia a los antibióticos existentes; la facilidad con la que se transmiten entre animales, de animales a personas y entre personas; si las infecciones que provocan pueden o no prevenirse; cuántas opciones terapéuticas quedan; y si se están investigando y desarrollando nuevos antibióticos para tratar las infecciones que causan (Cuadro 2) (Jiménez-Pearson et al., 2019).

Cuadro 2. Lista de patógenos resistentes prioritarios para la OMS.

Prioridad	Patógeno	Antibióticos a los que muestra resistencia
Crítica	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carbapenémicos principalmente, pero tiene la capacidad de generar resistencia a otros grupos
	Enterobacterales resistentes a carbapenémicos y productoras de β -lactamasas de espectro extendido (ESBLs)	Carbapenémicos y betalactámicos
Elevada	<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Metilicina y vancomicina
	<i>Helicobacter pylori</i>	Claritromicina
	<i>Campylobacter</i> spp.	Fluoroquinolonas
	<i>Salmonella</i> spp.	Fluoroquinolonas
Media	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cefalosporinas y fluoroquinolonas
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Shigella</i> spp.	Penicilina Ampicilina Fluoroquinolonas

Adaptado de OMS (2017a).

3. Resistencia a antibióticos

La mayor causa de muerte en el mundo para el año 2050 se ha pronosticado que será la resistencia a antimicrobianos (RAM) en bacterias patógenas, ya que la rápida adaptación de las bacterias a los nuevos antibióticos ha facilitado la selección y dispersión de patógenos resistentes (Monte et al., 2019). La RAM pone en peligro la eficacia de la prevención y el tratamiento de una serie cada vez mayor de infecciones bacterianas (Kirbis y Krizman, 2015).

Dada la importancia que tiene esto para la salud pública, la OMS publicó una lista de antibióticos de importancia crítica, con el fin de preservar su uso en salud humana y limitar su uso en salud veterinaria (Ramón et al., 2018).

El objetivo de esta lista es promover el uso prudente de dichos fármacos y retardar el desarrollo de resistencia por parte de las bacterias (Ramón et al., 2018). Dicha lista se actualiza periódicamente y en ella se clasifican todos los antibióticos utilizados actualmente en humanos y animales en tres categorías: de importancia crítica, muy importantes e importantes, los cuales se clasifican en función de su relevancia para la medicina humana (Cuadro 3) (OMS, 2017b).

Cuadro 3. Lista de antibióticos de importancia para la OMS según categoría de prioridad.

Antibióticos de importancia crítica	Antibióticos muy importantes	Antibióticos importantes
Cefalosporinas (3GC, 4GC, 5GC*)	Amidinopenicilinas	Aminociclitoles
Glicopéptidos	Anfenicoles	Polipéptidos cíclicos
Macrólidos y cetólidos	Cefalosporinas (1GC y 2GC*) y cefamicinas	Nitrofurantoinas
Polimixinas	Lincosamidas	Nitroimidazoles
Quinolonas	Penicilinas (antiestafilocócicas)	Pleuromutilinas
Aminoglucósidos	Ácidos pseudomónicos	
Ansamidas	Riminofezaminas	
Carbapenémicos y otros penémicos	Antibacterianos esteroideos	
Glicilciclinas	Estreptograminas	
Lipopéptidos	Inhibidores de la vía del folato	
Monobactámicos	Sulfonas	
Oxazolidionas	Tetraciclinas	
Penicilinas		
Derivados del ácido fosfónico		
Fármacos utilizados únicamente para tuberculosis		

Adaptado de OMS (2017b). *1GC: Primera generación. 2GC: Segunda generación. 3GC: Tercera generación. 4GC: Cuarta generación. 5GC: Quinta generación.

La presencia de esta resistencia en las bacterias impacta en el tratamiento de las infecciones adquiridas por los seres humanos, como infecciones urinarias y

digestivas por *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* o las infecciones respiratorias por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* (Yin et al., 2021).

Estas bacterias pueden no responder a los antibióticos empleados de rutina y requieren la utilización de tratamientos más complejos y de mayor costo, como antibióticos sintéticos, mezclas de antibióticos, entre otros (Yin et al., 2021). Los patógenos multirresistentes (MDR) son responsables de un aumento en la morbilidad y mortalidad de los pacientes ingresados en los hospitales, y ocasionan gran aumento en los costos de salud por la prescripción de medicamentos más caros y la prolongada estancia hospitalaria (Yin et al., 2021).

Las bacterias resistentes a antibióticos se encuentran en personas, animales, alimentos y el medio ambiente (en el agua, el suelo y el aire) y se pueden propagar entre personas y animales, incluso a partir de alimentos de origen animal, y de persona a persona. El control deficiente de la infección, las condiciones sanitarias inadecuadas, la manipulación inapropiada de los alimentos y el uso inadecuado de antibióticos tanto en el contexto de salud humana como salud veterinaria, fomentan la propagación de la resistencia a los antimicrobianos (Roe y Pillai, 2003; Bengtsson-Palme et al., 2018).

La resistencia a los antibióticos ocurre con el tiempo de forma natural, generalmente a través de cambios genéticos (Mazel y Davie, 1999). Estudios moleculares han evidenciado que los microorganismos productores de antibióticos, poseen genes que codifican para la expresión de mecanismos de resistencia para evitar el efecto tóxico de los mismos, de ahí que se considere a los organismos productores de antibióticos en el ambiente como el principal origen de los genes de resistencia a antibióticos (Mazel y Davies, 1999; Oliynyk, et al., 2007; Allen et al., 2010).

También se han encontrado genes de resistencia a antibióticos en bacterias aisladas de suelo virgen, lo que indica que estos genes de resistencia que están presentes en los organismos productores de antibióticos han sido transferidos en el tiempo de manera horizontal a bacterias no productoras, en un largo proceso evolutivo, de manera que han diseminado la resistencia a antibióticos en los organismos no productores (Allen et al., 2010; Liu et al., 2021).

Por tanto, resulta obvio que, mientras algunas bacterias resisten antibióticos de manera natural, otras debieron usar algún mecanismo de movilización y captura de ADN que hiciera viable el flujo de genes desde un organismo productor a otro no productor (Mazel y Davies, 1999; Oliynyk, et al., 2007; Allen et al., 2010).

A pesar de que esto ha ocurrido de manera natural con el paso del tiempo, el mal uso y el uso excesivo de antibióticos está acelerando este proceso, debido a una alta presión selectiva sobre las bacterias patógenas, que promueve esta transferencia horizontal de genes de resistencia (Monte et al., 2019).

Los ejemplos de mal uso se dan cuando son prescritos por médicos y tomados por personas con infecciones virales como resfriados y gripe, cuando no se cumplen los días y horas de administración en las personas y cuando se administran inadecuadamente como promotores del crecimiento en animales o se usan para prevenir enfermedades en animales sanos (Monte et al., 2019).

Los mecanismos de resistencia a antibióticos pueden clasificarse en: mecanismos de resistencia natural o intrínseca y mecanismos de resistencia adquirida (Cox y Wright, 2013). A continuación, se detallan los principales mecanismos involucrados.

3.1 Mecanismos de resistencia natural o intrínseca

Estos mecanismos se presentan como una propiedad intrínseca de una especie bacteriana, lo que implica que todos los organismos de una misma especie tienen la capacidad de resistir el antibiótico, dicha resistencia existía en el organismo previo a la era de los antibióticos y dado que es una propiedad inherente a la especie, por lo general el gen que codifica la resistencia se encuentra en el cromosoma (Cox y Wright, 2013).

Los dos principales mecanismos de resistencia intrínseca que se han identificado son la permeabilidad reducida y las bombas de eflujo activo. En el caso de la primera, corresponde a un fenómeno recurrente en bacterias Gram negativas, pues la presencia de la membrana externa las hace impermeables a muchas moléculas, entre ellas los antibióticos. Por el contrario, en las bacterias Gram positivas, la pared celular es mucho más porosa y, por tanto, permeable a un mayor número de compuestos químicos (Sharma et al., 2011).

En el caso de las bombas de eflujo activo, estas pueden expulsar fuera de la célula una gran variedad de antibióticos, mediante transporte activo. Este mecanismo está presente en todo tipo de bacterias y se considera uno de los principales factores detrás del perfil de multirresistencia en bacterias Gram negativas. Algunas bombas de eflujo muestran especificidad por cierto tipo de molécula, mientras que otras son de amplio espectro (Blair et al., 2014).

En los organismos procariotas se han descrito seis grupos o familias de proteínas transmembrana que funcionan como bombas de eflujo. Solamente una de ellas, la familia casete ABC de unión con ATP (ABC), utiliza el ATP como fuente de energía para el transporte de las moléculas con las que interactúa. Para las demás familias, la fuente de energía electroquímica proviene de los gradientes iónicos transmembranales (Blair et al., 2014).

Los restantes cinco grupos están conformados por la superfamilia facilitadora mayor (MFS, por sus siglas en inglés), la familia extrusora de multicompuestos y toxinas (MATE, por sus siglas en inglés), la familia pequeña de resistencia múltiple (SMR, por sus siglas en inglés), la superfamilia división de resistencia nodular (RND, por sus siglas en inglés) y la familia proteobacteriana de eflujo de compuestos antimicrobianos (PACE, por sus siglas en inglés) (Du et al., 2018).

Entre las familias descritas, la RND es la mejor caracterizada, por ser la de mayor relevancia clínica en materia de resistencia a antibióticos y se ha comprobado que, cuando el sistema RND es sobre expresado por las bacterias, les confiere fenotipos de multirresistencia a una amplia gama de antibióticos (Piddock, 2006). Las bombas RND están compuestas por un complejo de tres proteínas (AcrA, AcrB y Tolc) y pueden capturar su sustrato desde la bicapa de fosfolípidos de la membrana interna o desde el citoplasma y lo transportan hacia el medio extracelular (Du et al., 2018). La evidencia científica que ha sido encontrada hasta el momento apunta a que la función original de las bombas de eflujo era contribuir a la supervivencia dentro del hospedero, sin embargo, la capacidad de algunas de ellas para exportar una gran variedad de moléculas desencadenó en un mecanismo fortuito de resistencia a múltiples antibióticos, por lo que la investigación en este campo es muy intensa y

dinámica (Buckley et al., 2006; Webber et al, 2009; Bogomolnaya et al., 2013; Du et al., 2018).

3.2 Mecanismos de resistencia adquirida

A diferencia de la resistencia natural o intrínseca, la resistencia adquirida no ocurre en todos los organismos de una misma especie, sino que se presenta cuando algunos individuos sufren mutaciones puntuales en el cromosoma o adquieren material genético externo por transferencia horizontal (conjugación, transformación o transducción) y estos procesos se favorecen con el uso de antibióticos (Blair et al., 2014). A continuación, se detallan los principales mecanismos de resistencia adquirida.

3.2.1 Resistencia adquirida por mutaciones en el cromosoma

En la literatura se han descrito gran variedad de mutaciones puntuales en el cromosoma que están asociadas con resistencia a diferentes clases de antibióticos, principalmente a quinolonas, polimixinas y aminoglucósidos (Zankari et al., 2017). En el caso de la resistencia a quinolonas los genes relacionados con el metabolismo de ácidos nucleicos (*gyrAB* y *parCE*) son los principales asociados con esta resistencia (Hopkins et al., 2005); con respecto a las polimixinas, los genes que codifican para enzimas que modifican el lipopolisacárido de la membrana externa (*pmrAB*) son los responsables de la resistencia (Quesada et al., 2015); por último, las mutaciones en el ARN ribosomal (*16s_rrsD*) que previenen la interacción del ribosoma con los aminoglucósidos son los responsables de esta resistencia (Blair et al., 2014).

En la actualidad, existen herramientas bioinformáticas de libre acceso, como el programa AMRFinderPlus versión 3.8 (Feldgarden et al., 2019) y el programa ResFinder versión 4.0 (Bortolaia et al., 2020), que contribuyen con la identificación *in silico* de estas mutaciones para varias especies bacterianas de interés clínico.

3.2.2 Resistencia mediada por la adquisición de material genético externo

La adquisición de material genético externo puede ocurrir por tres mecanismos principales: transformación, conjugación y transducción. En el caso de la primera, esta ocurre cuando al morir una bacteria, otra célula competente captura parte del material genético que se libera en el ambiente. Por su parte, la transducción tiene lugar cuando la bacteria adquiere nuevos genes cuando es infectada por un bacteriófago. Finalmente, la conjugación es el proceso mediante el cual se integra ADN externo en forma de elementos genéticos móviles (MGEs, por sus siglas en inglés), tales como plásmidos, elementos integrativos conjugativos ICEs, por sus siglas en inglés) y transposones, o en forma de elementos movilizables tales como los integrones (von Wintersdorff et al., 2016; Partridge et al., 2018).

Se ha determinado que el mecanismo de mayor relevancia en la adquisición de genes de resistencia a antibióticos es la conjugación, por ser el que tiene un mayor potencial de diseminación, ya que esta requiere del contacto directo entre dos células bacterianas a través de los pili o adhesinas presentes en la superficie celular, y esto hace que el proceso de intercambio de ADN esté más protegido y sea más eficiente que en un proceso de transformación (von Wintersdorff et al., 2016). Aunado a esto, la conjugación puede ocurrir entre bacterias de la misma especie o de diferentes especies, a diferencia de la transducción, debido a que los bacteriófagos no tienen un rango muy amplio de hospederos bacterianos (Norman et al., 2009).

La conjugación mediada por plásmidos y por integrones permite la transferencia de varios genes de resistencia de manera simultánea, por lo que una célula receptora que anteriormente era pan-susceptible, puede convertirse en pan-resistente después de un evento de conjugación. A su vez una célula receptora se convierte en donante si recibió un elemento que contenga los genes *tra* (que codifican los componentes Mpf y Dtr), lo cual solo aplica para los plásmidos conjugativos (F+) y los ICEs pero no para los integrones, lo que contribuye a aumentar la difusión del material genético que confiere resistencia (Huddleston, 2014).

Con respecto a los integrones, estos pueden ser tanto de origen cromosómico como plasmídico y se han descrito cinco clases, siendo los de clase 1, los más importantes

en el contexto clínico, pues pueden portar genes de resistencia contra todos los betalactámicos, aminoglucósidos, cloramfenicol, trimetoprima, estreptomicina, rifampin, eritromicina, fosfomicina, lincomicina y antisépticos del grupo de los compuestos de amonio cuaternario (Mazel, 2006).

La función principal de los integrones es de servir como plataformas de integración de ADN que permiten a las bacterias captar marcos abiertos de lectura contenidos en lo que se conoce como “casetes de genes” (Gc, por sus siglas en inglés) exógenos y convertirlos en genes funcionales, al asegurar su expresión y de esta forma, los genes de resistencia recién incorporados pueden ser expresados de manera inmediata y, en caso de que no exista selección positiva de los mismos en el medio, puedan ser eliminados del genoma por medio de la enzima integrasa (tirosina-recombinasa) (Gillings, 2014).

3.2.3 Genes involucrados en la resistencia adquirida

Como se ha descrito anteriormente, el desarrollo de resistencia a antibióticos en una población bacteriana es un proceso que obedece a la adquisición de genes que codifican factores que realizan alguna de las siguientes funciones: enzimas que inactivan antibióticos mediante su degradación o modificación estructural; modificación de la molécula diana del antibiótico; activación de bombas de eflujo de antibióticos (Hur et al., 2012).

En el caso del grupo de los betalactámicos, la creciente resistencia de *Salmonella* spp. a penicilinas y cefalosporinas se debe a la adquisición de genes que codifican enzimas denominadas β -lactamasas, las cuales hidrolizan estos antibióticos (Foley y Lynne, 2008), y que se considera un grupo heterogéneo de enzimas (más de 700), algunas de las cuales tienen afinidad por un limitado número de betalactámicos, mientras que otras son de espectro extendido (ESBL, por sus siglas en inglés) (Carattoli, 2008).

Las ESBL del grupo 1 corresponden a la familia de enzimas AmpC, codificadas por los genes *blaCMY* y son capaces de hidrolizar todos los betalactámicos conocidos, excepto los carbapenémicos. Las del grupo 3 son las denominadas metalo-betalactamasas, codificadas por los genes *blaNDM*, *blaIMP*, *blaVIM*, entre otros,

que degradan todos los betalactámicos, incluso los carbapenémicos y ambos tipos se han encontrado tanto en genes del cromosoma como en plásmidos, lo que representa un riesgo adicional de diseminación, pues el plásmido se puede transmitir por conjugación, como se detalló anteriormente (Bush et al., 1995).

Las demás enzimas son inhibidas por ácido clavulánico, algunas de espectro reducido como las codificadas por los genes *blaSHV*, *blaCTX-M* y *blaCARB* y otras de espectro extendido como las codificadas por el gen *blaTEM*, del grupo 2b, que parecen ser las ESBL más ampliamente distribuidas en *S. enterica* (Bush et al., 1995). Al respecto, se ha sugerido que la amplia distribución de ambos grupos de ESBL obedece a que sus genes codificantes son portados en plásmidos, lo que facilita su diseminación (Carattoli, 2008; Nüesch-Inderbinen y Stephan, 2016).

Con respecto a los aminoglicósidos y los macrólidos, estos son inactivados por modificación estructural, y en el caso de los aminoglicósidos, se han descrito tres tipos de enzimas: las fosfotransferasas, las acetiltransferasas y las adenililtransferasas, de las cuales existen múltiples variantes. Las fosfotransferasas, codificadas por los genes *aph* y *strAB*, afectan principalmente a kanamicina y estreptomina; las acetiltransferasas (genes *aac*) inactivan gentamicina; mientras que las adenililtransferasas (genes *aadA*, *aadB*, entre otros) inactivan estreptomina, espectinomicina y gentamicina (Jia et al., 2017).

Para el caso de los macrólidos, los genes que confieren resistencia mediante modificación enzimática incluyen *ereAB*, que afectan a eritromicina; así como *mphAB*, que inactivan eritromicina, azitromicina y claritromicina; y los genes *Inu* que inactivan a la lincomicina. La resistencia a estos antibióticos también puede estar mediada por genes que modifican su molécula diana. Por ejemplo, los genes *erm(30)*, *erm(31)*, entre otros, que codifican enzimas modificadoras de la subunidad 23S del ribosoma, lo que impide la interacción de este con los macrólidos (Jia et al., 2017).

La modificación de moléculas diana afecta también a otros antibióticos, como los inhibidores de la vía del folato o sulfonamidas. En este caso, genes como *sul1*, *sul2* y los *dfrABD*, codifican enzimas modificadas (dihidropteroato y dihidrofolato

reductasa, respectivamente), las cuales no tienen afinidad por las sulfonamidas (Jia et al., 2017).

Finalmente, la activación de bombas de eflujo es otro mecanismo que utilizan las bacterias contra ciertos antimicrobianos. Este mecanismo afecta principalmente a tetraciclinas, fenicoles y quinolonas. En tetraciclinas, los genes *tet(AB...Z)*, se asocian con la activación de bombas de eflujo de la familia MFS, descrita anteriormente. La misma función cumplen los genes *floR* y *cmlABV*, que confieren resistencia a cloramfenicol. Por tanto, la presencia de genes de resistencia contra uno solo de estos antibióticos podría conferir resistencia contra las dos clases, ya que ambos activan la misma familia de bombas de eflujo (Jia et al., 2017).

En quinolonas, los genes *oqxAB* activan bombas de eflujo de la familia RND (Hansen et al., 2005), lo que resulta mucho más preocupante, tomando en cuenta que las bombas RND son de amplio espectro y que estos genes suelen ser portados por plásmidos. Para las quinolonas existe otro mecanismo adicional, también codificado en plásmidos (genes *qnrAB*), cuyos productos son polipéptidos que mimetizan el ADN y protegen la ADN girasa de la inhibición causada por las quinolonas (Poirel et al., 2005), pero sólo aportan un bajo nivel de resistencia, que usualmente no se detecta en pruebas de susceptibilidad a antibióticos (Strahilevitz et al., 2009).

No obstante, la exposición de las cepas a concentraciones terapéuticas de quinolonas podría estimular la sobre expresión de estos genes, conllevando a niveles de resistencia mucho más elevados. De hecho, existe evidencia experimental que relaciona la presencia de genes *qnrAB* con la emergencia de cepas de *Salmonella* resistentes a ciprofloxacino (Karczmarczyk et al., 2010; Lin et al., 2015).

En la actualidad, existen herramientas bioinformáticas de libre acceso, como el programa AMRFinderPlus versión 3.8 (Feldgarden et al., 2019), el programa ResFinder versión 4.0 (Bortolaia et al., 2020), así como la base de datos CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database) (Jia et al., 2017), que contribuyen con la identificación *in silico* del resistoma de varias especies bacterianas de interés clínico.

4. Resistencia a antibióticos en *Salmonella* spp.

La salmonelosis no tifoidea es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo y en los últimos años, diversos estudios han reportado un aumento de la resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos de origen animal (Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Delgado-Suárez et al., 2018; Delgado-Suárez et al., 2019; Palós et al., 2020; Delgado-Suárez et al., 2021).

En estos estudios, se ha determinado que *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ha revelado cierta virulencia a factores que intervienen en la colonización intestinal de las principales especies productoras de alimentos de origen animal, no obstante, al hacer la comparación genómica existe una variación considerable en los genes de virulencia entre las diferentes serovariedades (Delgado-Suárez et al., 2018).

Diversos estudios utilizando SNPs (polimorfismos de nucleótidos únicos, por sus siglas en inglés), han identificado un total de 39 genes de resistencia a distintos tipos de antibióticos, tales como aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfonamidas, trimetoprima, betalactámicos, fluoroquinolonas, fenicol y macrólidos; también se ha encontrado la presencia de mutaciones puntuales en algunos de los genes, como en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* (Almeida et al., 2018).

En humanos los serotipos de *Salmonella* que más rápido adquieren resistencia son: Typhimurium y Enteritidis, y con el paso del tiempo ha aumentado su prevalencia en países desarrollados, y a diferencia de otras cepas de *Salmonella* presenta una nueva característica genética ya que su multirresistencia está localizada en sus cromosomas (Louden et al., 2012).

Para el tratamiento de infecciones con *Salmonella* spp., los antibióticos orales comunes de primera línea que se han utilizado son fluoroquinolonas (en el caso de los adultos) y la azitromicina (para los niños); la ceftriaxona es un agente alternativo para el tratamiento de primera línea (Tang et al., 2017).

Lamentablemente para la salud pública, algunos serotipos ya poseen completa resistencia a los antimicrobianos de primera elección para su tratamiento; por ejemplo, el serotipo Typhi causante de la fiebre tifoidea en humanos, es tratada en

muchos países con ciprofloxacino, puesto que es el único antibiótico que puede combatirla; al presentar multirresistencia (de 8 a 10 antibióticos) este serotipo contribuyó a la inutilización de varios antibióticos y ha puesto en alto riesgo a las fluoroquinolonas. La aparición de SE MDR, incluidas las cepas resistentes a las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación es una evolución seria que plantea limitaciones graves en las posibilidades del tratamiento eficaz de las infecciones humanas (Almeida et al., 2018).

En el Cuadro 4, se muestra con detalle diversos estudios que demuestran la resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* spp., en toda la cadena de producción bovina, incluyendo heces, canales, cortes y carne. Esta información es de gran importancia, pues permite identificar los grupos de antibióticos que van perdiendo eficacia contra este patógeno y la aparición cada vez más frecuente de cepas MDR.

Cuadro 4. Perfiles de resistencia a antibióticos de cepas de *Salmonella* en productos de origen bovino en el mundo.

País	Producto	Perfil fenotípico de RAM	MDR	Fenotipo más común	Referencia
Polonia	Carne	AMP: 35.9% TET: 24.6%	53.8%	AMP/CTF/STR/FLO/SXT/TET	Plawińska-Czarnak et al. (2022)
Letonia	Carne cruda y cocinada	SXT: 38% NAL: 24%	23.8%	AMP/TET/SXT	Terentjeva et al. (2017)
Australia	Heces	FLO: 34.3% STR: 7.5%	3.7%	FLO/AMP/STR/TET/SXT	Barlow et al. (2015), Abraham et al. (2022)
Vietnam	Carne	TET: 40.7-66.4% AMP: 22-49.6%	6.3-52.2%	TET/AMP/SXT/NAL	Van et al. (2007), Nhung et al. (2018)
Irán	Carne molida	PEN: 97.5% AMC: 88.5%	91.7%	-	Rajaei et al. (2021)
Malasia	Carne	ERO: 100% PEN: 100%	100%	ERO/PEN/VAN	Thung et al. (2018)
China	Carne	SXT: 100% CHL: 88.9%	84.8%	AMP/AMC/CHL/SXT/FIS/NAL/STR	Yin et al. (2016), Wang et al. (2021)
Egipto	Carne	AMP: 86.7-95.7% SXT: 53.3-91.5%	26.3-68.1%	AMC/AMP/CPD	Ahmed et al. (2014), Moawad et al. (2017)
Uganda	Carne	CEZ: 100% KAN: 100%	100%	CEZ/KAN/NIF/CIP/NAL	Onohuean y Igere (2022)
Etiopía	Carne, canales, heces	STR: 86.7% TET: 57%	50-70%	TET/AMP/STR	Egualé et al. (2016), Hiko et al. (2018), Geresu y Desta (2021)
Brasil	Carne seca	SXT: 25%	-	-	Pereira-Fernandes et al. (2017)
Estados Unidos	Linfonodos, carne molida, heces	TET: 16.1-39.5% STR: 9.9-34.9%	10.7-50.8%	AMP/AMC/CHL/STR/TET	Webb et al. (2017), Davidson et al. (2018), Lee et al. (2022)
Canadá	Canales y carne molida	TET: 49% STR: 37%	26.4%	AMC/AMP/FOX/CTF/CRO	Bohaychuk et al. (2011), Aslam et al. (2012)
México	Carne molida, canales, linfonodos	TET: 40.3-90.9% SXT: 16.9-59%	26-70%	CHL/STR/SXT/TET	Nayarit-Ballesteros et al. (2016), de la Garza-García et al. (2020), Palós-Gutiérrez et al. (2020)

AMP: ampicilina. TET: tetraciclina. CTF: ceftiofur. STR: estreptomycin. SXT: trimetoprima-sulfametoxazol. FLO: enrofloxacin. NAL: ácido nalixídico. PEN: penicilina. AMC: amoxicilina + ácido clavulánico. ERO: eritromicina. CHL: cloranfenicol. CEZ: cefazolina. KAN: kanamicina. VAN: vancomicina. FIS: sulfisoxazol. CPD: cefpodoxima. NIF: nitrofurantoina. CIP: ciprofloxacino. FOX: cefoxitina. CRO: ceftriaxona.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el perfil genotípico y fenotípico de resistencia a antibióticos de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de muestras de carne de res del centro de la República Mexicana, así como determinar la frecuencia de contaminación en función de la entidad federativa de procedencia.

METODOLOGÍA

Este trabajo no requirió de la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, dado que en el estudio no se emplearon animales de experimentación.

1. Diseño del estudio

Se trabajó bajo un esquema de estudio epidemiológico transversal con análisis multinivel, en el que la unidad de agrupamiento fueron las capitales de los ocho estados del centro de la República Mexicana y la unidad de muestreo individual fueron los establecimientos de venta de carne de res (carnicerías populares) durante el año 2021.

2. Cálculo de tamaño de muestra

Para calcular el tamaño de muestra requerido se utilizó la estrategia de estimación de una proporción poblacional con especificación de precisión absoluta, según lo que plantea Aguilar-Barojas (2005):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2}$$

donde:

n = tamaño de muestra mínimo requerido

Z_{α^2} = valor de Z en una distribución normal cuando $\alpha= 0.05$ (1.96)

p = prevalencia esperada (0.30)

q = 1 – prevalencia esperada (0.70)

d = precisión absoluta esperada (0.05)

Con los datos de prevalencia y precisión esperada se obtuvo que el tamaño de muestra necesario era de 115 muestras, cuya distribución es acorde con la cantidad de población de la ciudad y la cantidad de carnicerías populares que se encuentran en las mismas. Esta distribución se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Distribución de las muestras de acuerdo con la entidad federativa de procedencia.

Ciudad	Estado	Número de muestras
Ciudad de México	Ciudad de México	25
Toluca	Estado de México	20
Pachuca	Hidalgo	10
Cuernavaca	Morelos	10
Puebla	Puebla	20
Querétaro	Querétaro	10
Chilpancingo	Guerrero	10
Tlaxcala	Tlaxcala	10
Total		115

3. Toma de muestras

Las muestras fueron recolectadas en establecimientos de venta de carne, los cuales fueron previamente identificados de acuerdo con el estado de procedencia.

Las muestras se componían de 250 g de carne molida de res, las cuales se colocaron en bolsas plásticas estériles, previamente identificadas y se mantuvieron en hieleras con geles refrigerantes (aproximadamente a 4° C), para su envío al Laboratorio de Investigación II del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, para su posterior procesamiento.

4. Análisis microbiológicos

4.1 Aislamiento de cepas de Salmonella

Las muestras refrigeradas fueron preparadas de acuerdo con los lineamientos de la norma NOM-210-SSA-2014. El primer paso consistió en colocar 25g de la muestra en una bolsa de Stomacher® previamente identificada y agregarle 225 mL de agua peptonada, homogenizando la mezcla durante 1 min. Después, se dejaron reposar durante 2 h a temperatura ambiente para posteriormente ser incubadas a 37°C por 18-24 h. Posteriormente, se agregó 1 mL de esta mezcla (caldo de enriquecimiento con la carne) en tubos separados con 10 mL de caldos selectivos *Salmonella* Rappaport-Vassidialis y Tetracionato para incubar a 41.5°C por 24 h.

Posteriormente se sembraron 100 µL de los homogenados de Rappaport-Vassidialis y de Tetracionato sobre placas de agares selectivos: entérico Hecktoen (EH), xilosa, lisina, desoxicolato (XLD) y agar sulfito bismuto (SB) (Wu et al., 2001). La siembra se realizó por el método de agotamiento y se incubaron a 37°C por 18 a 24h.

La descripción detallada de los procedimientos empleados está disponible en la plataforma de acceso abierto protocols.io: doi: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpybmsn>.

4.2 Confirmación bioquímica de las cepas de Salmonella

Los aislamientos con morfología sugestiva a *Salmonella* se confirmaron bioquímicamente, mediante las pruebas de agar hierro y triple azúcar (TSI), agar hierro y lisina (LIA) y urea, establecidas por la NOM-210-SSA-2014 (Cuadro 6 y Figura 1).

Cuadro 6. Resultados esperados para la confirmación bioquímica de *Salmonella* mediante las pruebas de TSI, LIA y urea.

Medio	Superficie	Fondo	Producción de H ₂ S	Observaciones
TSI	Reacción alcalina (color rojo)	Reacción ácida (color amarillo)	Positiva, precipitado de color negro	Producción de gas (burbujas en el tubo)
LIA	Reacción alcalina (color púrpura)	Reacción alcalina (color púrpura)	Positiva, precipitado de color negro	Producción de gas (burbujas en el tubo)
Urea	-	-	-	Reacción negativa (color amarillo)



Figura 1. Representación gráfica de los resultados esperados para la confirmación bioquímica de *Salmonella*.

La descripción detallada de los procedimientos empleados está disponible en la plataforma de acceso abierto protocols.io: doi: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpybmspn>.

4.3 Confirmación molecular de las cepas de *Salmonella*

La confirmación molecular de los aislamientos presuntamente positivos a *Salmonella* spp. se realizó mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR punto final), amplificando un fragmento del gen *invA* (500 pb), el cual es constitutivo del género. El ADN se extrajo con el kit “Ez - 10 Spin Column Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit” (BioBasic, Inc.), siguiendo las instrucciones del proveedor. Se utilizaron los primers forward (CGCCATGGTATGGATTTGTC) y reverse (GTGGTAAAGCTCATCAAGCG), en reacciones de PCR con un volumen total de 10 μ L, empleando los reactivos del MyTaq™ Mix, con las siguientes concentraciones finales: 5 μ L de MyTaq™ Mix, 0.2 μ L de cada dNTP y 2.1 μ L de agua libre de nucleasas. Las condiciones de termociclado fueron de: 94°C/3 min de desnaturalización inicial; posteriormente, 35 ciclos de desnaturalización, alineación y extensión (95°C/45 s, 62°C/30 s, 72°C/45 s, respectivamente) y 72°C/2 min de extensión final.

Los productos de amplificación por PCR se procesaron por electroforesis en gel de agarosa al 2% con voltaje constante de 80V por 50 min, mientras que la visualización y digitalización de imágenes se realizó en un foto-documentador Gel Logic 2200, con el programa Care Stream. Los aislamientos confirmados se conservaron de dos modos; en el primero, se elaboraron inóculos de 1 mL tomando colonias frescas y mezclándolas en caldo Infusión-cerebro-corazón (BHI) con 10% de glicerol y se mantuvieron a -70°C en un ultracongelador; en el segundo, se realizó un respaldo de los aislamientos en agar TSA inclinado, almacenado a temperatura ambiente.

La descripción detallada de los procedimientos empleados está disponible en la plataforma de acceso abierto protocols.io: doi: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpybmpsn>.

4.4 Determinación fenotípica de resistencia a antibióticos de cepas de *Salmonella*

Para la determinación fenotípica de resistencia a antibióticos se utilizó un panel de 12 antibióticos clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como de antibióticos de importancia crítica (aminoglucósidos, quinolonas, penicilinas,

cefalosporinas de tercer y cuarta generación, carbapenémicos) y muy importantes (fenicoles, inhibidores de la vía del folato, tetraciclinas) (OMS, 2018). Además, se seleccionaron antibióticos que actualmente están aprobados en México para su uso tanto en medicina humana como veterinaria, como se muestra en el Cuadro 7.

El perfil de susceptibilidad a antibióticos se determinó mediante la técnica de difusión en disco de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966). La preparación del inóculo se realizó mediante suspensión directa de colonias (1-3) en solución salina (0.85% m/v) y estandarizada a 0.5 unidades McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL). Se sembró por la técnica de extensión en superficie con un hisopo estéril en agar Mueller-Hinton y posteriormente se colocaron los sensidiscos de antibióticos (Cuadro 7) con un dispensador. Seguidamente, los agares se incubaron a 37°C por 16 a 18 h, y con una regla, se midió el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento para cada antibiótico. La descripción detallada de los procedimientos empleados está disponible en la plataforma de acceso abierto protocols.io: doi: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpypmpvn>.

Los resultados se interpretaron según los criterios del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2021), como se muestra en el Cuadro 7. Las cepas que se utilizaron como control de calidad fueron: *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, sus respectivos criterios de calidad se muestran en el Cuadro 8. Para la clasificación de cepas multi-resistentes (MDR), se tomó en cuenta que resistiera a tres o más clases de antibióticos (Magiorakos et al., 2012).

Cuadro 7. Panel de antibióticos a utilizar en la prueba de resistencia fenotípica a antibióticos y los respectivos criterios para clasificación de cepas de *Salmonella* resistentes.

Antibiótico	Clase	Concentración (µg)	Puntos de corte clínico según CLSI (mm)		
			Sensible	Intermedia	Resistente
Ampicilina (AMP)	Betalactámico (penicilina)	10	≥17	14-16	≤13
Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	Combinación de betalactámicos	20/10	≥18	14-17	≤13
Ceftriaxona (CRO)	Betalactámico (cefalosporina de tercera generación)	30	≥23	20-22	≤19
Cefepime (FEP)	Betalactámico (cefalosporina de cuarta generación)	30	≥25	19-24	≤18
Meropenem (MEM)	Betalactámico (carbapenémico)	10	≥23	20-22	≤19
Ciprofloxacina (CIP)	Fluoroquinolona	5	≥31	21-30	≤20
Azitromicina (AZM)	Macrólido	15	≥13	-	≤12
Tetraciclina (TET)	Tetraciclina	30	≥15	12-14	≤11
Cloramfenicol (CHL)	Anfenicol	30	≥18	11-17	≤10
Amikacina (AMK)	Aminoglucósido	30	≥17	15-16	≤14
Estreptomina (STR)	Aminoglucósido	10	≥15	13-14	≤12
Trimetoprima-sulfametoxazol (SXT)	Inhibidor de la vía del folato	25	≥16	11-15	≤10

Adaptado de Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2021).

Cuadro 8. Panel de antibióticos a utilizar en la prueba de resistencia fenotípica a antibióticos y los respectivos criterios de calidad para cepas control de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Antibiótico	Concentración (µg)	Bacteria	Rangos de control de calidad (mm)
Ampicilina (AMP)	10	<i>E. coli</i> ATCC 8739	15-22
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	20/10	<i>E. coli</i> ATCC 8739	18-24
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Ceftriaxona (CRO)	30	<i>E. coli</i> ATCC 8739	29-35
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	17-23
Cefepime (FEP)	30	<i>E. coli</i> ATCC 8739	31-37
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25-31
Meropenem (MEM)	10	<i>E. coli</i> ATCC 8739	28-35
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	27-33
Ciprofloxacina (CIP)	5	<i>E. coli</i> ATCC 8739	29-38
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25-33
Azitromicina (AZM)	15	<i>E. coli</i> ATCC 8739	-
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Tetraciclina (TET)	30	<i>E. coli</i> ATCC 8739	18-25
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Cloramfenicol (CHL)	30	<i>E. coli</i> ATCC 8739	21-27
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Amikacina (AMK)	30	<i>E. coli</i> ATCC 8739	19-26
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	20-26
Estreptomina (STR)	10	<i>E. coli</i> ATCC 8739	12-20
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-
Trimetropin-sulfametoxazol (SXT)	25	<i>E. coli</i> ATCC 8739	23-29
		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-

Adaptado de Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2021).

5. Secuenciación del genoma completo y predicción de serotipos

El ADN genómico (gADN) se extrajo utilizando el kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kit de Qiagen, según las instrucciones del fabricante. El gADN se cuantificó usando un fluorómetro Qubit 3.0. Las bibliotecas de ADN se prepararon a partir de 1 ng de ADN genómico utilizando el kit Nextera XT v.2 (Illumina) y secuenciando en el sistema Illumina MiSeq (lecturas pareadas de 2x250 pb). La predicción de los serotipos, se realizó mediante un análisis *in silico* de los genomas ensamblados con el programa Salmonella *In Silico* Typing Resource (SISTR) versión 1.1.2 (Yoshida et al., 2016).

6. Evaluación de la calidad y depuración de las lecturas crudas

Para evaluar la calidad inicial de las lecturas crudas se utilizó el programa FastQC (Andrews, 2010). Seguidamente se realizó el proceso de depuración para eliminar los adaptadores de secuenciación de Illumina, así como las lecturas de pobre calidad, utilizando el programa Trimmomatic (Bolger et al., 2014). Las secuencias depuradas se analizaron de nuevo con FastQC para garantizar que solo se utilizaron lecturas de alta calidad ($Q > 30$). El índice de calidad Q se relaciona con la probabilidad de error (P_{error}) en el llamado de las bases. La puntuación de calidad de secuenciación de una base determinada, Q, se define mediante la siguiente ecuación (Shi et al., 2010):

$$Q = -10 \times \log_{10} (P_{\text{error}})$$

Por tanto, al despejar P_{error} , se obtiene:

$$P_{\text{error}} = 10^{-Q/10}$$

De esta forma, valores de $Q \geq 30$ se corresponden con una $P_{\text{error}} \leq 0.001$, de ahí que este valor se utilice como objetivo al depurar las lecturas crudas, para garantizar la confiabilidad de los datos de secuenciación empleados en estudios genómicos.

7. Ensamble y anotación del genoma

El ensamble de los genomas se llevó a cabo en el servidor PATRIC (Pathogen Resource and Integration Center) (Wattam et al., 2014) utilizando el algoritmo de ensamblaje de novo del programa SPAdes versión 3.13.1 (Bankevich et al., 2012). Los ensambles se evaluaron con el programa QUAST (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies) versión 5.02. (Gurevich et al., 2013), para asegurar que cumplían con los requisitos mínimos para ser utilizados en aplicaciones de inocuidad de alimentos, salud pública y epidemiología: menor número de contigs posible y de tamaño grande. Además, se verificó que el tamaño del genoma (4.5-5.0 Mpb) y el porcentaje de guanina-citocina (%GC: 51-52) se encontraban dentro del intervalo típico de SE. La anotación del genoma se realizó en el servidor RAST (<https://rast.nmpdr.org/>) y se configuró para corregir automáticamente errores y cambios de marco.

8. Perfiles genotípicos de resistencia a antibióticos y genómica comparativa

La identificación del perfil genómico de resistencia a antimicrobianos se llevó a cabo mediante un análisis *in silico* de los genomas ensamblados, con la ayuda del programa AMRFinderPlus versión 3.8 (Feldgarden et al., 2021). De esta forma, se pudo observar la presencia o ausencia de genes de interés, así como de las mutaciones asociadas con la resistencia a antibióticos, en las cepas bajo estudio. En el caso de los integrones estos se determinaron mediante la herramienta Genome Browser del servidor RAST (<https://rast.nmpdr.org/>).

9. Perfil de plásmidos

Los plásmidos son conocidos como fuertes contribuyentes a la diseminación de la resistencia a antibióticos y dado que el ADN genómico contiene tanto ADN cromosómico como de plásmidos, se realizó un perfilado de los plásmidos presentes en las cepas bajo estudio.

Para esto se llevó a cabo un análisis *in silico* de los genomas ensamblados, con la ayuda del programa PlasmidFinder versión 2.1 (Carattoli et al., 2014) y un umbral de identidad del 95%.

En caso de aciertos positivos, se descargó la secuencia del plásmido de referencia de la base de datos del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y se alineó con los borradores de los genomas utilizando la herramienta Gview Server (<https://server.gview.ca/>) (Sthotard et al., 2019). Si la mayor parte de la secuencia del plásmido (>70%) (Delgado-Suárez et al., 2018) estaba representada en un genoma y el contexto genómico de los genes coincidía con el del plásmido (sintenia), se propuso que estos aislamientos llevaban el plásmido predicho.

10. Análisis filogenéticos

Con los datos de la secuenciación del genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés) de las cepas bajo estudio se construyó un árbol filogenético de máxima verosimilitud con el uso del programa CSI Phylogeny (Rolf et al., 2014), utilizando como organismo externo a la cepa *S. bongori* CP006608.1.

Dada la clonalidad intraserotipo de las cepas bajo estudio, se seleccionaron cepas representativas de cada serotipo y cepas públicas involucradas en casos clínicos humanos en México, cuyos genomas se descargaron de la base de datos del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Anexo 7), y se construyó un segundo árbol filogenético de máxima verosimilitud utilizando al mismo organismo externo.

11. Análisis estadísticos

Se utilizó estadística descriptiva para determinar: la frecuencia absoluta y relativa de muestras positivas a *Salmonella* para cada capital estatal de procedencia de las muestras; para determinar la proporción de cepas por serotipo que mostraron resistencia para cada antibiótico analizado; y para determinar la frecuencia relativa de cepas por serotipo y capital estatal de procedencia que resultaban pansusceptibles, no MDR o MDR, utilizando el programa IBM SPSS Statistics 25. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado y el cálculo de la razón de probabilidades/posibilidades (OR por sus siglas en inglés), para determinar si existía asociación entre: la frecuencia de contaminación con SE y la ciudad de procedencia de los aislamientos; la presencia de fenotipos de multirresistencia y la ciudad de procedencia de los aislamientos; la presencia de fenotipos de

multirresistencia y los serotipos encontrados; los fenotipos de resistencia intermedia a ciprofloxacino y la presencia de los genes *qnrB19* y *qnrA1*, los cuales se han asociado con estos perfiles de resistencia intermedia; los fenotipos de resistencia intermedia a ciprofloxacino y la presencia del plásmido pHAD28, el cual contiene el gen *qnrB19*; y los genotipos de multirresistencia y la presencia del gen *qacEdelta-1*, el cual se encuentra presente en un integron de clase 1 junto con otros genes que confieren perfiles de MDR, utilizando el programa IBM SPSS Statistics 25.

También se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre el número de fenotipos y genotipos de resistencia para cada antibiótico probado, utilizando el programa IBM SPSS Statistics 25.

Para la presencia de genes de resistencia por serotipo se realizó un mapa de calor, para el cual se determinó primero el número de aislamientos de cada serotipo que albergaba los genes de resistencia para cada grupo de antibióticos. Usando estos datos, se calculó la proporción de aislamientos de cada serotipo que tenía la característica y se usaron estos datos para generar un mapa de calor con el programa Morpheus (<https://software.broadinstitute.org/morpheus/>).

RESULTADOS

1. Frecuencia de contaminación con *Salmonella*

La frecuencia de contaminación con *Salmonella* por capital estatal estudiada se muestra en la Figura 2.

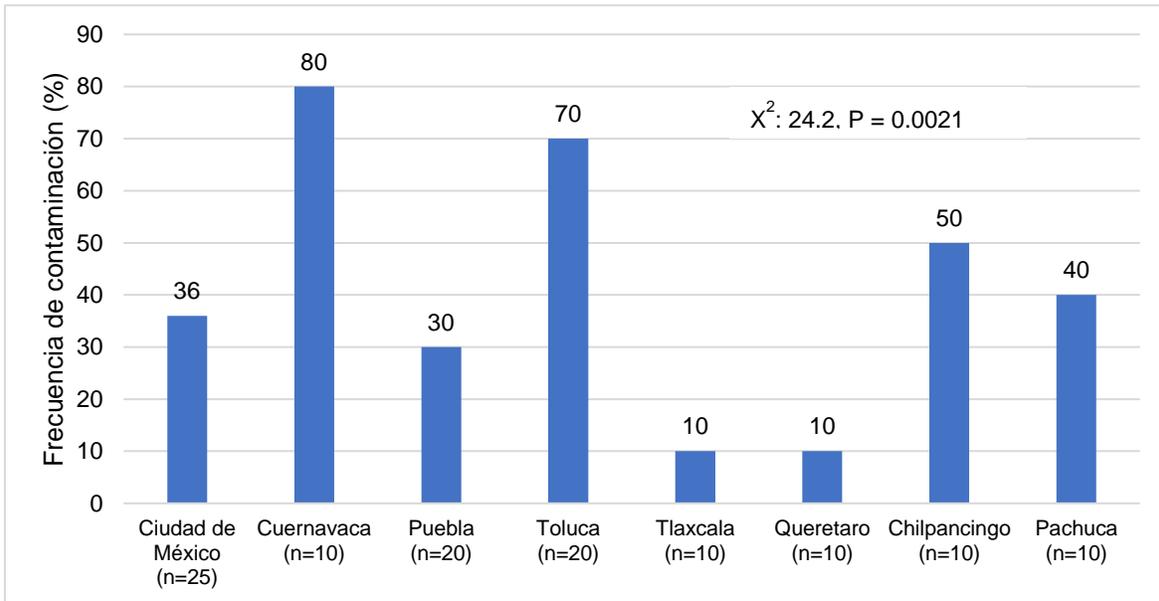


Figura 2. Frecuencia de contaminación con *Salmonella* para cada entidad federativa estudiada.

La frecuencia de contaminación global promedio fue de 41.7%, aunque esta varió según la zona geográfica de procedencia de la muestra (X^2 : 24.2, $P=0.0021$) (Figura 2), con una mayor probabilidad de encontrar muestras positivas en Cuernavaca y Toluca con respecto a las demás entidades federativas [razón de probabilidades: 25.5, intervalo de confianza al 95% (IC95): 2.21-299.32, $P=0.0016$].

En cuanto a la cantidad de cepas aisladas por ciudad, de las 109 cepas, Toluca con 42 (38.5%) y Cuernavaca con 20 (18.3%) fueron las ciudades con mayor aporte, mientras que Tlaxcala y Querétaro fueron las que tuvieron un menor aporte (una cepa cada una, 0.01%) (Cuadro 9).

Con respecto a los serotipos correspondientes a las cepas aisladas, se encontraron 18 diferentes y la distribución de la frecuencia absoluta por entidad federativa se muestra en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Frecuencia absoluta de los serotipos de *Salmonella* encontrados en las capitales de cada entidad federativa que participó en el estudio.

Serotipos	n	Entidad federativa ¹							
		CDMX	CUER	PUE	TOL	TLAX	QRO	CHIL	PAC
Adelaide	12	-	8	-	3	-	-	-	1
Agona	3	-	-	3	-	-	-	-	-
Anatum	26	4	4	1	12	1	-	4	-
Bovismorbificans	1	-	-	-	1	-	-	-	-
Derby	8	-	-	-	6	-	-	-	-
Give	2	-	-	-	2	-	-	-	-
Goldcoast	5	-	-	-	5	-	-	-	-
Havana	5	5	-	-	-	-	-	-	-
1,4,[5],12:i:-	3	-	-	2	-	-	-	-	1
Infantis	11	2	6	-	1	-	-	-	2
London	6	-	2	-	4	-	-	-	-
Mississippi	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Muenchen	2	-	-	-	2	-	-	-	-
Newport	12	4	-	1	3	-	1	-	3
Panama	4	3	-	-	-	-	-	-	1
Rissen	1	-	-	-	1	-	-	-	-
Seftenberg	6	-	-	4	2	-	-	-	-
Typhimurium	1	-	-	1	-	-	-	-	-
Total	109	18	20	12	42	1	1	4	9

¹CDMX: Ciudad de México; CUER: Cuernavaca; PUE: Puebla; TOL: Toluca; TLAX: Tlaxcala; QRO: Querétaro; CHIL: Chilpancingo; PAC: Pachuca.

De los 18 serotipos encontrados, Anatum (23.9%), Adelaide (11%) y Newport (11%) fueron los de mayor frecuencia relativa (Cuadro 9). Particularmente, los serotipos Anatum y Newport fueron los que tuvieron una mayor distribución geográfica, encontrándose en 6 y 5 entidades federativas, respectivamente; mientras que los serotipos Bovismorbificans, Mississippi, Rissen y Typhimurium encontrados en una entidad federativa cada uno, fueron los de menor distribución geográfica.

Con respecto a la diversidad de serotipos encontrados por ciudad, Toluca es la que tuvo una mayor diversidad con 12 serotipos diferentes, mientras que la menor diversidad se observó en Tlaxcala y Querétaro, con 1 serotipo cada una.

2. Perfil fenotípico de resistencia a antibióticos de *Salmonella*

Las cepas aisladas mostraron resistencia fenotípica para 10 de los 12 antibióticos analizados, siendo tetraciclina (41.3%), cloramfenicol (39.4%), estreptomomicina

(38.5%) y trimetoprima-sulfametoxazol (32.1%), a los que más mostraron resistencia. Por el contrario, todas las cepas presentaron susceptibilidad a meropenem y amikacina (Figura 3).

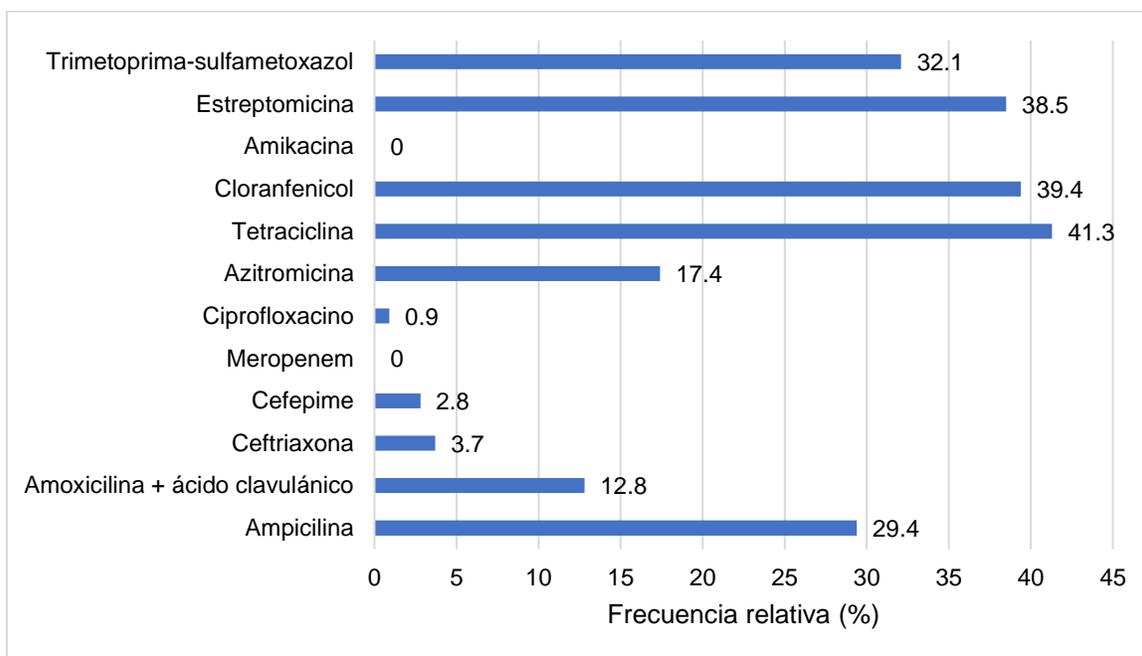


Figura 3. Frecuencia relativa de cepas de *Salmonella* resistentes a cada antibiótico evaluado (n=109).

Del total de cepas, 58 (53.2%) se clasificaron como pan-susceptibles, 2 (1.8%) mono-resistentes, 5 (4.6%) bi-resistentes y 44 (40.4%) como MDR. Poco más del 88% de las cepas MDR mostró resistencia a cuatro o más clases de antibióticos (Cuadro 10).

Cuadro 10. Fenotipos de resistencia a antibióticos encontrados en las cepas de *Salmonella* aisladas de carne de res.

Fenotipo de resistencia (n)	Serotipos (n)	Clases de antibióticos
Pan-susceptible (58)	Adelaide (7), Anatum (14), Bovismorbificans (1), Derby (5), Give (2), Goldcoast (5), Havana (5), Infantis (10), London (6), Mississippi (1), Muenchen (1), Panama (1)	0
AZM (1)	Infantis (1)	1
TET (1)	1, 4, [5], 12:i:- (1)	1
STR/SXT (2)	Panama (2)	2
TET/STR (3)	Derby (3)	2
AMP/TET/STR (1)	1, 4, [5], 12:i:- (1)	3
TET/CHL/SXT (3)	Anatum (2), Newport (1)	3
AMP/CHL/STR/SXT (1)	Anatum (1)	4
AMP/TET/CHL/STR (3)	Adelaide (2), Panama (1)	4
AZM/TET/CHL/SXT (3)	Newport (1), Seftenberg (2)	4
TET/CHL/STR/SXT (4)	Anatum (4)	4
AMP/AMC/TET/CHL/STR (3)	Adelaide (3)	4
AMP/AMC/CRO/TET/CHL/STR (1)	Newport (1)	4
AMP/AMC/CRO/FEP/AZM/CHL/STR (2)	Seftenberg (2)	4
AMP/TET/CHL/STR/SXT (9)	Anatum (5), Agona (3), Muenchen (1)	5
AZM/TET/CHL/STR/SXT (2)	Newport (2)	5
AMP/AMC/TET/CHL/STR/SXT (1)	Rissen (1)	5
AMP/AMC/AZM/TET/CHL/SXT (1)	Newport (1)	5
AMP/AZM/TET/CHL/STR/SXT (4)	1, 4, [5], 12:i:- (1), Newport (2), Seftenberg (1)	6
AMP/AMC/AZM/TET/CHL/STR/SXT (5)	Newport (4), Seftenberg (1)	6
AMP/AMC/CRO/FEP/CIP/AZM/TET/CHL/STR (1)	Typhimurium (1)	6

*AMP: ampicilina. AMC: amoxicilina + ácido clavulánico. CRO: ceftriaxona. FEP: cefepime. CIP: ciprofloxacino. AZM: azitromicina. TET: tetraciclina. CHL: cloramfenicol. STR: estreptomina. SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

De los 20 fenotipos de resistencia a antibióticos encontrados, los más frecuentes fueron: AMP/TET/CHL/STR/SXT (9/44) y AMP/AMC/AZM/TET/CHL/STR/SXT (5/44), lo que refuerza el hecho de que tetraciclina, cloramfenicol, estreptomina y trimetoprima-sulfametoxazol fueron los antibióticos a los que las cepas de *Salmonella* obtenidas en este estudio mayormente mostraron resistencia.

La distribución porcentual de cepas pan-susceptibles, mono y bi-resistentes (No MDR) y multi-resistentes (MDR) por ciudad se muestran en la Figura 4.

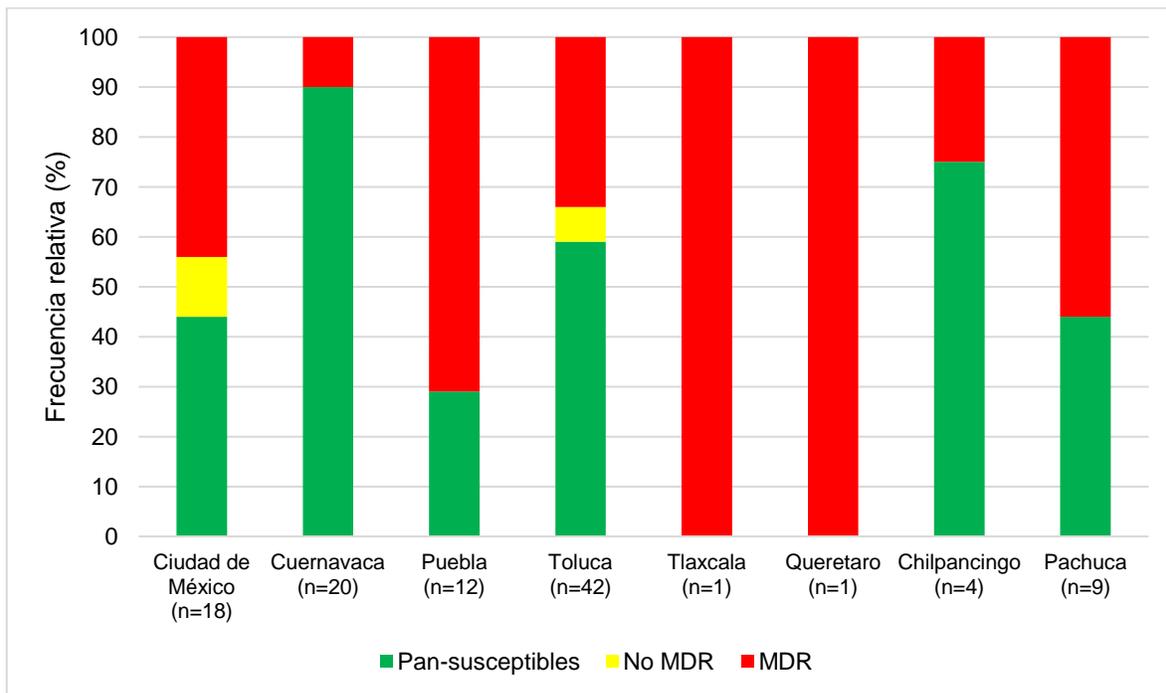


Figura 4. Frecuencia relativa de cepas de *Salmonella* multi-resistentes, no multi-resistentes y pan-susceptibles por ciudad.

Se encontró asociación significativa ($X^2=25.3$, $P=0.0017$) entre la entidad federativa de procedencia de la muestra y la frecuencia de cepas MDR, con una mayor probabilidad de encontrar cepas MDR en Tlaxcala, Querétaro y Puebla con respecto a las demás entidades federativas [razón de probabilidades: 16.31, IC95 2.69-100.37, $P<0.0001$] (Figura 4), considerando la limitante de contar con solo una cepa para las ciudades de Tlaxcala y Querétaro.

La distribución porcentual de cepas pan-susceptibles, mono y bi-resistentes (No MDR) y multi-resistentes (MDR) por serotipo se muestran en la Figura 5.

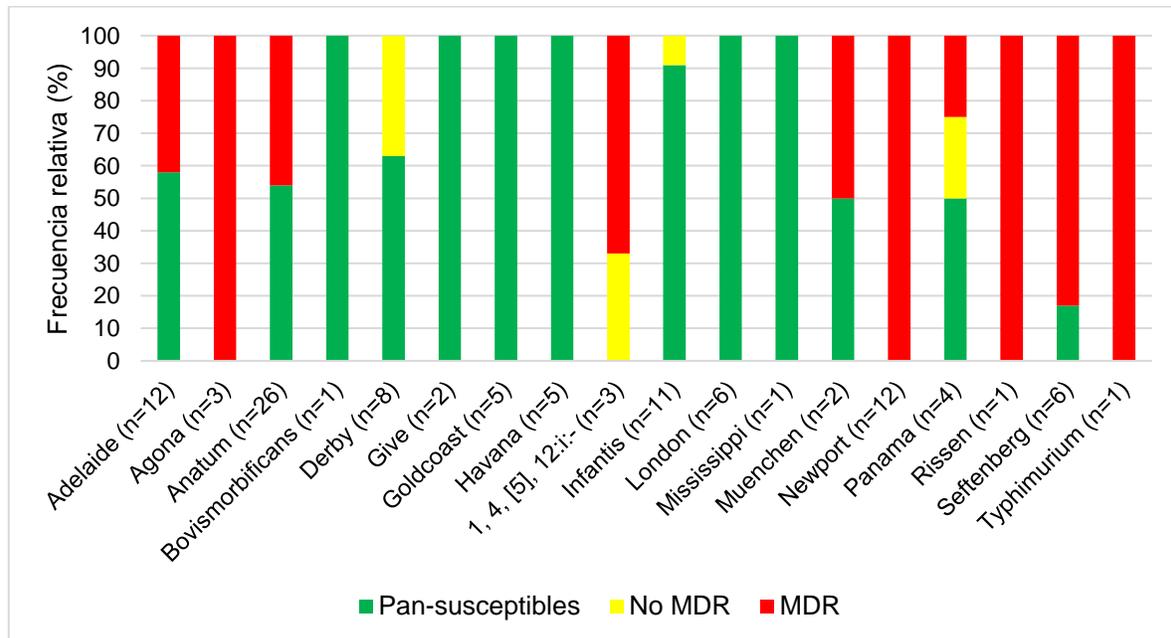
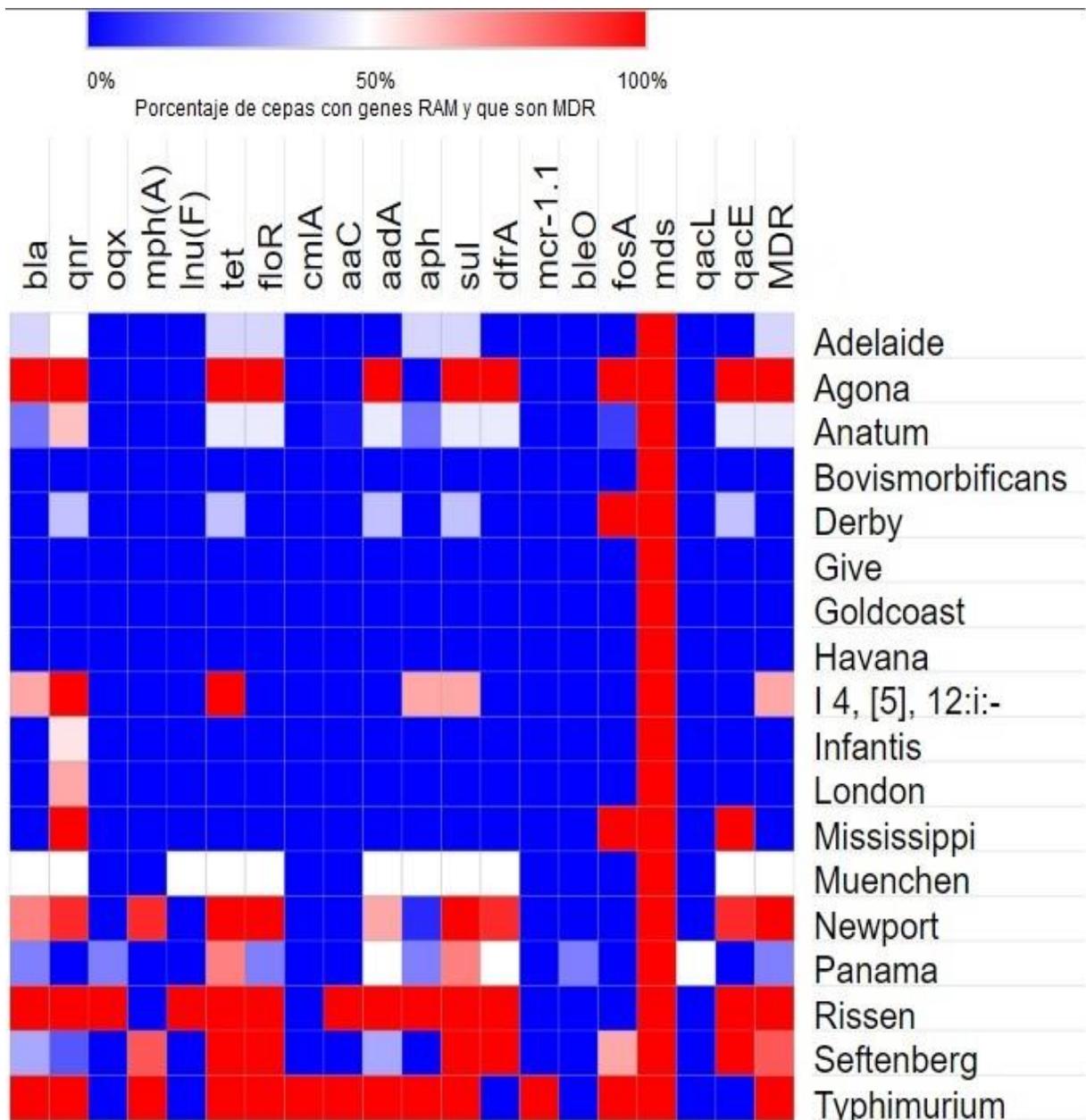


Figura 5. Frecuencia relativa de cepas de *Salmonella* multi-resistentes, no multi-resistentes y pan-susceptibles por serotipo.

Se encontró asociación significativa ($X^2=53.1$, $P<0.0001$) entre el serotipo y la frecuencia de cepas MDR, con una mayor probabilidad de encontrar cepas MDR en los serotipos Agona, Typhimurium, Rissen y Newport que en los demás [razón de probabilidades: 23.8, IC95 6.69-132.37, $P<0.0001$] (Figura 5), considerando la limitante de contar con solo una cepa para los serotipos Bovismorbificans, Mississippi, Rissen y Tiphymurium.

3. Perfil genotípico de resistencia a antibióticos de *Salmonella*

Se encontraron genes de resistencia para todas las clases de antibióticos (7) evaluadas en este estudio (Figura 6).



*Betalactámicos: *bla*. Quinolonas: *qnr*, *oaq*. Macrólidos: *mph(A)*, *Inu(F)*. Tetraciclinas: *tet*. Fenicoles: *floR*, *cmIA*. Aminoglucósidos: *aaC*, *aadA*, *aph*. Inhibidores de la vía del folato: *sul*, *dfrA*. Colistina: *mcr-1.1*. Bleomicina: *bleO*. Fosfomicina: *fosA*. Bomba de eflujo RND: *mds*. Bomba de eflujo SMR: *qacL*. Bomba de eflujo MFS: *qacE*.

Figura 6. Mapa de calor que muestra el perfil genotípico de resistencia a antibióticos de las cepas de *Salmonella*. Los genes de RAM y la clase de antibiótico afectada se indican en la parte inferior. La escala indica el porcentaje de cepas que poseen genes de RAM y que son genotípicamente multirresistentes (MDR).

Los resultados obtenidos muestran que, en todas las cepas bajo estudio, tanto susceptibles como resistentes, se encontraron los genes *mdsAB* correspondientes

a una bomba de eflujo de la superfamilia división de resistencia nodular (RND, por sus siglas en inglés) (Du et al., 2018). El eflujo activo corresponde a un mecanismo de resistencia intrínseco, y la evidencia científica que ha sido encontrada hasta el momento apunta a que la función original de las bombas de eflujo era contribuir a la supervivencia dentro del hospedero, sin embargo, la capacidad de algunas de ellas para exportar al exterior de la célula una gran variedad de moléculas desencadenó en un mecanismo fortuito de resistencia a múltiples antibióticos (Du et al., 2018). También se puede observar que los serotipos Typhimurium y Rissen son los que tuvieron una mayor proporción de genes de resistencia para todas las clases de antibióticos evaluadas, contrario a lo observado para los serotipos Bovismorbificans, Give, Goldcoast y Havana (Figura 6), considerando la limitante de contar con solo una cepa para los serotipos Bovismorbificans, Mississippi, Rissen y Tiphymurium. A partir de estos resultados se calculó la diversidad de genes de resistencia a antibióticos (ARGd), que es el número de alelos diferentes que codifican mecanismos de resistencia distintos contra una misma clase de antibióticos. Este es un indicador de los diferentes mecanismos de resistencia adquirida presentes en las poblaciones bacterianas (Figura 7).

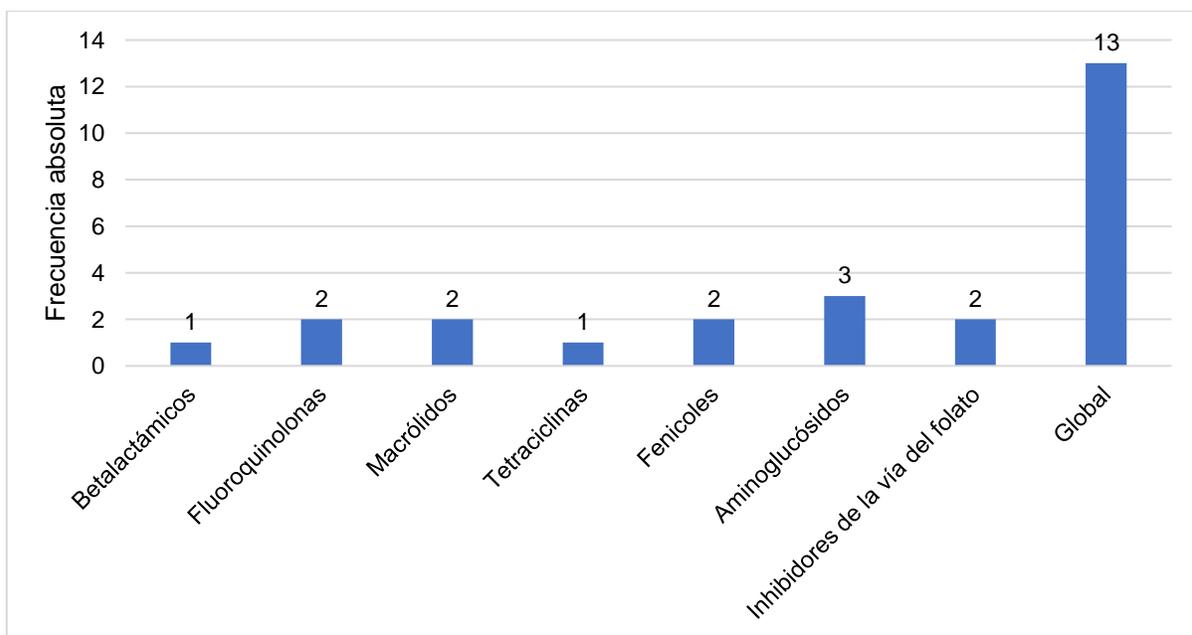
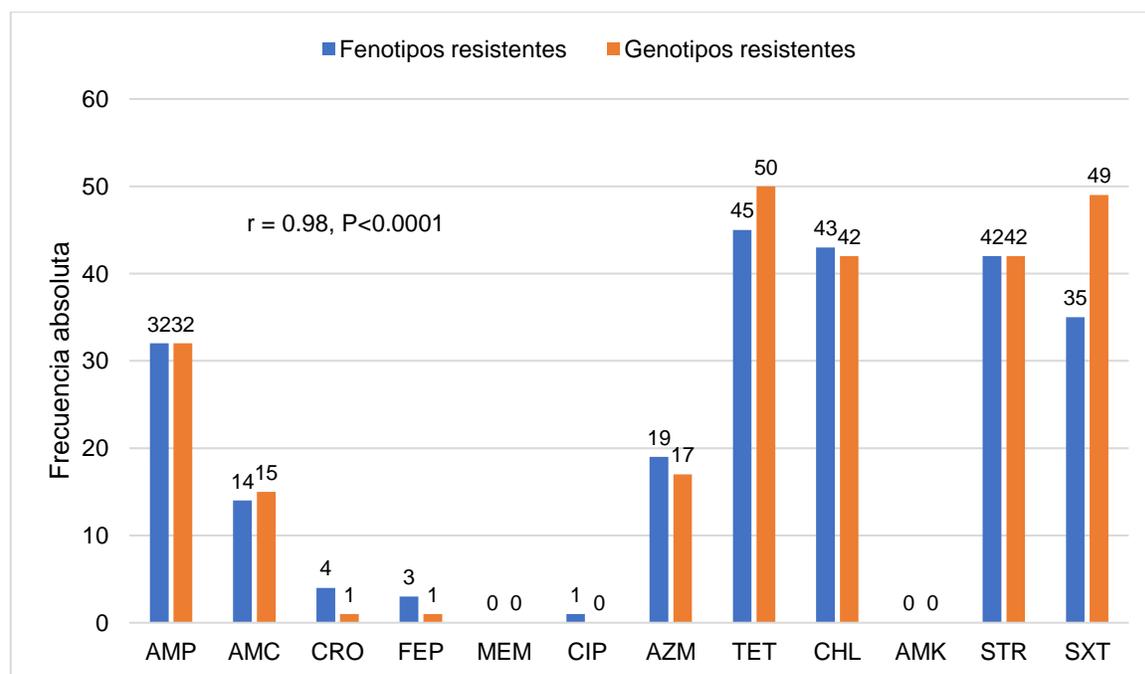


Figura 7. Diversidad de genes de resistencia a antibióticos (ARGd) de las cepas de *Salmonella* (global y por clase de antibiótico).

La mayor diversidad de genes de RAM involucró a los aminoglucósidos (3, genes *aph*, *aadA* y *aac*), mientras que lo contrario ocurrió en betalactámicos (*bla*) y en tetraciclinas (*tet*) (1 alelo cada una). En cuanto al ARGd global, las cepas bajo estudio mostraron 13 mecanismos diferentes para resistir a las 7 clases de antibióticos evaluadas.

Se observó una fuerte asociación ($r = 0.98$, $P < 0.0001$) entre los genotipos de RAM predichos y los fenotipos RAM observados (Figura 8).



*AMP: ampicilina. AMC: amoxicilina + ácido clavulánico. CRO: ceftriaxona. FEP: cefepime. MEM: meropenem. CIP: ciprofloxacino. AZM: azitromicina. TET: tetraciclina. CHL: cloramfenicol. AMK: amikacina. STR: estreptomina. SXT: trimetoprima-sulfametoxazol.

Figura 8. Representación esquemática de la correlación entre genotipos predichos de RAM y fenotipos observados de RAM en las cepas de *Salmonella*. La figura muestra el número de aislamientos genotípica y fenotípicamente resistentes por antibiótico evaluado.

Con respecto a las mutaciones, se sabe que corresponden a una forma en que las bacterias se vuelven resistentes a los antibióticos y por ende los genomas ensamblados también se analizaron en busca de mutaciones puntuales asociadas con la resistencia y los genes asociados a estas mutaciones, la diversidad de estas

y la proporción de cepas que contenían dichas mutaciones se muestran en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Mutaciones puntuales encontradas y genes que las contenían en las cepas de *Salmonella* bajo estudio.

Gen	Mutaciones encontradas	Proporción de cepas con mutación	Fenotipo asociado	Referencia
<i>ramR</i>	M1V, L115I, M83T	100.0%	Multi-resistencia	Abouzeed et al. (2008)
<i>acrB</i>	M964T	100.0%	Macrólidos	Ahsan y Rahman (2019)
<i>gyrA</i>	D795E, T661N	3.7%	Quinolonas	Liu y Chen (2017)
<i>gyrB</i>	T717N, Q624K	12.8%	Quinolonas	Liu y Chen (2017)
<i>parC</i>	T255S, T57S, S469A, H747P, N395S, A620T, E6A, R365L	100%	Quinolonas	Liu y Chen (2017)
<i>parE</i>	T599I, P231L	5.5.%	Quinolonas	Liu y Chen (2017)
<i>pmrA</i>	T89S, P102L	22.0%	Colistina	Koutsolioutsou et al. (2005)
<i>pmrB</i>	M15T, A111T, GV73SI, I83V	21.1%	Colistina	Koutsolioutsou et al. (2005)
<i>16s_rrsD</i>	A1296T, A406G, AAG538TTC, C1074T, C523A, T412C, T409G, A508G, A525T, G536A, G540C, T544C, G1453A	100.0%	Multi-resistencia	Fábrega et al. (2004)

La aparición de mutaciones fue inconsistente con los fenotipos observados (X^2 : 1.1, $P=0.58$), pues muchos de los aislamientos portaban múltiples mutaciones en la región determinante de la resistencia a las quinolonas (QRDR, por sus siglas en

inglés), es decir en los genes *gyrAB* y *parCE*, independientemente de si eran susceptibles o no a ciprofloxacino. Asimismo, el 100% de los aislamientos presentaba mutaciones en los genes *ramR* y *16_rrsD*, los cuales confieren perfiles MDR, aun así, solo el 40.5% de las cepas se clasificaron como MDR (X^2 : 1.5, $P=0.68$). También se encontraron mutaciones en los genes *pmrAB*, que están asociados con la resistencia a la colistina, el cual no fue evaluado en la prueba de susceptibilidad de antibióticos. Asimismo, las mutaciones en el gen *acrB*, que se ha informado que confieren resistencia a la azitromicina en cepas de *Salmonella* tifoidea, se encontraron en el 100% de las cepas.

3.1 Resistencia a betalactámicos

Las cepas bajo estudio contenían los genes codificantes de betalactamasas de clase A: *bla-CARB-2*, *bla-PSE*, *bla-CTX-M-14* y *blaTEM-1* y el gen *bla-CMY-2* que codifica para una betalactamasa de clase C (Anexo 5).

En el caso de las betalactamasas de clase A, estas confieren resistencia a todas las penicilinas, así como a cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, mientras que las de clase C confieren resistencia a penicilinas y a todas las generaciones de cefalosporinas (primera, segunda, tercera y cuarta generación) (Lee et al., 2019).

El gen *blaCARB-2* fue el más abundante entre las cepas que mostraron resistencia a las penicilinas, especialmente en las del serotipo Newport (7/12). En cuanto al gen *bla-TEM-1* este se encontró principalmente en el serotipo Adelaide (5/12), y este codifica para otra betalactamasa de espectro extendido (ESBL), la cual tiene la capacidad de hidrolizar penicilinas y cefalosporinas de primera generación (Lee et al, 2019).

En cuanto al gen *blaPSE*, este se encontró solamente en una cepa del serotipo Newport, que resultó susceptible a penicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Con respecto al gen *bla-CTX-M-14*, solo se encontró en una cepa del serotipo Typhimurium, la cual mostró resistencia a penicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Por otro lado, el gen *bla-CMY-2*, que codifica para una betalactamasa de clase C (Lee et al., 2019), se encontró en dos cepas, una del

serotipo Newport y otra del serotipo Typhimurium, las cuales mostraron resistencia a penicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación.

Solamente dos cepas que resultaron no susceptibles a penicilinas y cefalosporinas de tercera y cuarta generación, carecían de algún gen codificante de ESBL conocido y además todas las cepas bajo estudio tenían mutaciones en el gen *ramR*, las cuales se han asociado con la resistencia a varias clases de antibióticos, incluidas las penicilinas (Abouzeed et al., 2008), aunque no se observó asociación entre las mutaciones en *ramR* y estos perfiles.

Solamente cuatro cepas, una del serotipo Newport, dos del serotipo Seftenberg y una del serotipo Typhimurium, mostraron resistencia a cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona) y tres de estas (Seftenberg y Typhimurium) mostraron también resistencia a cefalosporinas de cuarta generación (cefepime). Sin embargo, estas cepas carecían de genes codificantes de ESBL de clase C, B o D, que son de amplio espectro y pueden afectar a ambos grupos de betalactámicos (Lee et al., 2019).

3.2 Resistencia a fluoroquinolonas

El principal mecanismo de resistencia a fluoroquinolonas que se encontró fue el codificado por genes de resistencia mediados por plásmidos (PMQR, por sus siglas en inglés), como es el caso de *qnrB19* y *qnrA1*, en 56 cepas de diferentes serotipos (Anexo 5). Estos genes están involucrados en la protección de las moléculas diana de las fluoroquinolonas (ADN girasa y topoisomerasa IV) (Song et al., 2018). Además, se detectó la presencia, en 41 cepas de distintos serotipos, del plásmido pHAD28 (KU674895) (Cuadro 10), el cual contiene el gen *qnrB19* y que se ha determinado como un mecanismo eficaz de diseminación de estos genes de resistencia en *Salmonella* (Jibril et al., 2021).

La presencia de genes PMQR estuvo asociada con la resistencia intermedia a ciprofloxacino observada en las cepas bajo estudio [$X^2 = 36,8$, $P < 0,0001$, OR: 28.51, IC95: 9.2-30.3, $P < 0.0001$], la cual también se asoció con la presencia del plásmido pHAD28 [$X^2 = 33.79$, $p < 0.0001$, OR: 21.48, IC95: 12.5-39.3, $P < 0.0001$].

El valor del halo de inhibición en la prueba de susceptibilidad a antibióticos para cepas con resistencia intermedia y con la presencia del gen *qnrB19* fue de 26mm, mientras que en aquellas cepas que mostraron resistencia intermedia pero no contenían estos genes fue de 30mm, lo que muestra que podría haber una influencia de estos genes sobre la expresión del fenotipo de resistencia intermedia a ciprofloxacino. Finalmente, el halo de inhibición para aquellas cepas que resultaron susceptibles fue de 34mm.

También se detectó la presencia de los genes *oqxA* y *oqxB* en dos cepas, una del serotipo Panama y otra del serotipo Rissen. Dichos genes codifican para bombas de eflujo codificadas por plásmidos, que confieren resistencia a múltiples agentes, incluidas las fluoroquinolonas (Li et al., 2019), sin embargo, ambas cepas resultaron con fenotipos susceptibles para ciprofloxacino.

Finalmente, no se encontró ninguna asociación estadística entre la presencia de mutaciones puntuales en la zona determinante de resistencia a quinolonas (QRDR, por sus siglas en inglés) y los fenotipos observados [X^2 : 2.3, $P=0.12$].

3.3 Resistencia a macrólidos

Entre las cepas bajo estudio, 18 de ellas portaban el gen *mph(A)*, el cual codifica para una fosfotransferasa responsable de la modificación enzimática de la azitromicina y, por ende, la pérdida de su efectividad (Hooda et al, 2019). Este gen se encontró en cepas de los serotipos Newport (12), Seftenberg (5) y Typhimurium (1) (Anexo 5), las cuales mostraron fenotipos de resistencia a azitromicina y perfiles de MDR.

Solamente dos cepas del serotipo 1, 4, [5], 12:i:- (Typhimurium monofásica), mostraron fenotipos de resistencia a azitromicina y carecían de algún gen de resistencia a macrólidos. También se encontró la presencia del gen *Inu(F)* en dos cepas, una del serotipo Muenchen y otra del serotipo Rissen, el cual está asociado a la presencia de un integrón de clase 2 en estas mismas cepas (Figura 13). Este gen codifica para una nucleotidiltransferasa que afecta principalmente a la lincosamida (Ahsan y Rahman, 2019), la cual no fue sujeto de evaluación fenotípica en este estudio.

3.4 Resistencia a tetraciclinas

El principal mecanismo asociado con resistencia a tetraciclinas observado en este estudio fue el conferido por los genes codificantes de bombas de eflujo (*tetABM*), los cuales se encontraron en 50 cepas de diferentes serotipos (Anexo 5). Dentro de estos genes, *tetA*, fue el más frecuente (40/50) en el genoma de las cepas estudiadas.

Aunque cinco cepas (una del serotipo Anatum, dos del serotipo Panama y dos del serotipo Seftenberg), portaban genes *tet*, mostraron fenotipos susceptibles a tetraciclina. Todas las cepas bajo estudio (109), tanto susceptibles como resistentes, portaban mutaciones en el gen *ramR*, que están asociados con perfiles MDR que involucran tetraciclinas y otras clases de antibióticos (Abouzeed et al., 2008), por lo que no se encontró asociación estadística [χ^2 : 1.5, P=0.68].

3.5 Resistencia a fenicoles

La resistencia al cloramfenicol en las cepas bajo estudio se asoció principalmente con mecanismos de eflujo, codificados por el gen *floR*, el cual se presentó en 42 cepas de diferentes serotipos (Anexo 5). Solamente una cepa del serotipo 1, 4, [5], 12:i:- (Typhimurium monofásica), no portaba el gen, pero si mostró un fenotipo de resistencia. Además, una cepa del serotipo Typhimurium portaba tanto el gen *floR* como el *cmIA1* (Bissonnette et al., 1991), el cual codifica un segundo mecanismo de resistencia: inactivación enzimática.

3.6 Resistencia a aminoglucósidos

Las cepas que mostraron resistencia a aminoglucósidos portaban genes que codificaban mecanismos de inactivación enzimática, como la fosforilación [*aph(6)-IId*, *aph(3'')-Ib*, *aph(3')-Ia*, *aph(4)-Ia*] presentes en 18 cepas de distintos serotipos, la adenilación [*aadA1*, *aadA2*, *aadA5*] presentes en 33 cepas de distintos serotipos y la acetilación [*aac(3)-IIId*, *aac(3)-Iva*] presentes en tres cepas de distintos serotipos (Anexo 5). Asimismo, tres cepas, una del serotipo Newport y dos del serotipo Seftenberg, no tenían ningún gen asociado con resistencia a aminoglucósidos y, no obstante, mostraron fenotipos de resistencia y un perfil de MDR.

3.7 Resistencia a inhibidores de la vía del folato

En cuanto a los inhibidores de la vía del folato, el mecanismo de resistencia más abundante entre las cepas bajo estudio fue el codificado por los alelos *sul* (*sul1* y *sul2*) presentes en 49 cepas de diferentes serotipos y los alelos *dfrA* (*dfrA1*, *dfrA12* y *dfrA17*) presentes en 36 cepas de diferentes serotipos (Anexo 5), lo que demuestra que los alelos *sul* fueron más predominantes que los alelos *dfrA*. Además, en 11 cepas de diferentes serotipos se encontró la presencia de estos genes, sin embargo, las cepas mostraron fenotipos susceptibles.

3.8 Resistencia a antimicrobianos no evaluados en el panel de resistencia fenotípica

Se detectaron alelos de resistencia a fosfomicina (*fosA*, *fosA7.2*, *fosA3*, *fosA7.3*, *fosL2*), que codifican para mecanismos de modificación enzimática (Beharry y Palzkill, 2005), en 20 cepas de distintos serotipos (Anexo 5).

También se encontró la presencia del gen *mcr1.1* en una cepa del serotipo Typhimurium (Anexo 5). Este gen codifica para una fosfoetanolaminotransferasa transmitida por plásmidos, que confiere resistencia a la colistina (Liu et al., 2015). Se encontró además la presencia del gen *bleO*, que codifica para la resistencia a bleomicina (Shen et al., 2002), en una cepa del serotipo Panama.

Se encontró también la presencia del gen *qacL* en dos cepas del serotipo Panama (Anexo 5). Este gen codifica para una bomba de eflujo de la familia pequeña de resistencia múltiple (SMR, por sus siglas en inglés), que confiere resistencia a desinfectantes y antisépticos (Ceccarelli et al., 2006).

Finalmente se encontró la presencia de los genes *qacE* y *qacEdelta-1* en 40 cepas de diferentes serotipos (Anexo 5). Estos genes codifican para bombas de eflujo de la superfamilia facilitadora mayor (MFS, por sus siglas en inglés) que confieren resistencia a desinfectantes y antisépticos (Kazama et al., 1999). Se encontró asociación estadística entre la presencia de estos genes y los perfiles de MDR [χ^2 : 34.8, $P < 0.0001$], así como con la presencia de un integrón de clase 1 (Figura 12) [χ^2 : 46.29, $P < 0.0001$].

3.9 Perfil de plásmidos

Se encontraron replicones de cuatro plásmidos de resistencia (Cuadro 12) en aproximadamente la mitad de las cepas (51/109).

El plásmido pHAD28 (KU674895) fue el que se detectó con mayor frecuencia (41 cepas de 11 serotipos distintos). Además, este plásmido tiene una contribución discreta con los perfiles de resistencia, pues solo contiene el gen *qnrB19* (Figura 9), el cual, como se mencionó anteriormente, genera perfiles de resistencia intermedia a fluoroquinolonas, en este caso a ciprofloxacino. No se encontró asociación estadística entre la presencia de este plásmido y los fenotipos de MDR entre las cepas bajo estudio [X2: 3.7, P=0.15].

Cuadro 12. Características generales de los plásmidos predichos en los aislamientos de *Salmonella* y su distribución por serotipo.

Número de accesoión NCBI del plásmido	Tamaño (pb)	Grupo de incompatibilidad	Genes RAM del plásmido	Serotipo (n)
R64 (AP001547)	120826	Incl1	<i>tetACD, strAB</i>	Agona (3) Anatum (3)
pHAD28 (KU674895)	2617	-	<i>qnrB19</i>	Adelaide (6) Agona (1) Anatum (11) Derby (3) 1, 4, [5], 12:i:- (3) Infantis (6) London (3) Mississippi (1) Muenchen (1) Newport (5) Typhimurium (1)
R478 (BX664015)	274762	IncHI2	<i>tetACDR, cat</i>	Anatum (6) Muenchen (1) Panama (1) Rissen (1)
R621a (AP011954)	93185	Inclγ	<i>tetACDR</i>	Anatum (1)

*Genes resaltados en negrita se encontraban presentes en las cepas bajo estudio.

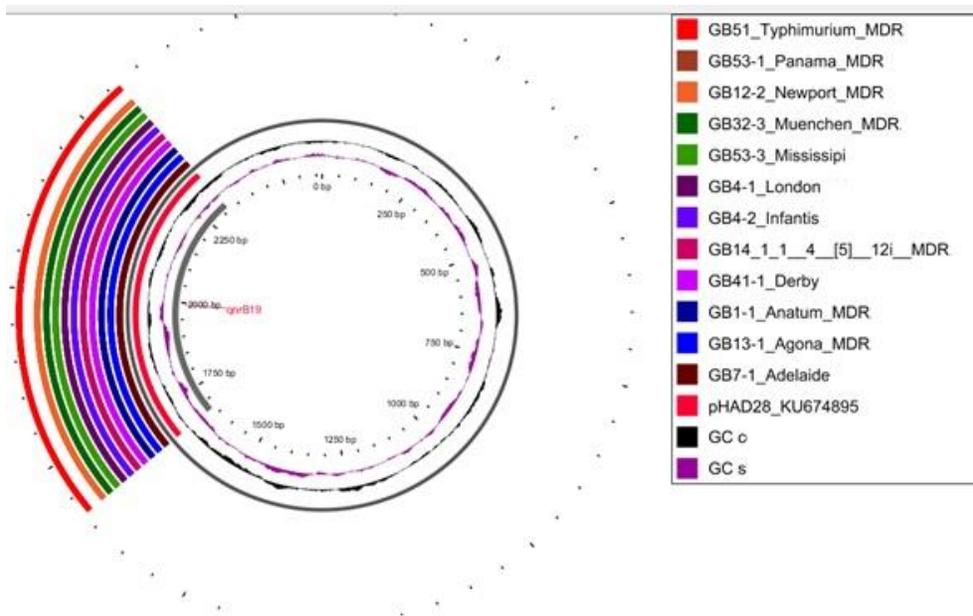


Figura 9. Análisis de atlas de BLAST del plásmido pHAD28 de 12 cepas de distintos serotipos. El anillo gris es la plantilla, el rosado interior corresponde a la secuencia de referencia del plásmido y el más interno muestra la anotación del gen *qnrB19*. Los anillos exteriores corresponden a cada una de las cepas con su nombre y respectivo serotipo. MDR: multirresistente. GC c: contenido de guanina-citocina. GC s: variación en el contenido de G-C.

Con respecto al plásmido R478 (BX664015), su distribución entre los distintos serotipos fue más discreta, pues se predijo que estaba presente en nueve cepas de cuatro serotipos diferentes (Cuadro 12). En cuanto a su contribución con los perfiles de resistencia, la predicción realizada muestra que cerca del 80% del plásmido se encontraba representado en las cepas (Figura 10). Sin embargo, los genes de resistencia *tetADCR* y *cat*, que se asocian con este plásmido, no se encontraban presentes en las cepas.

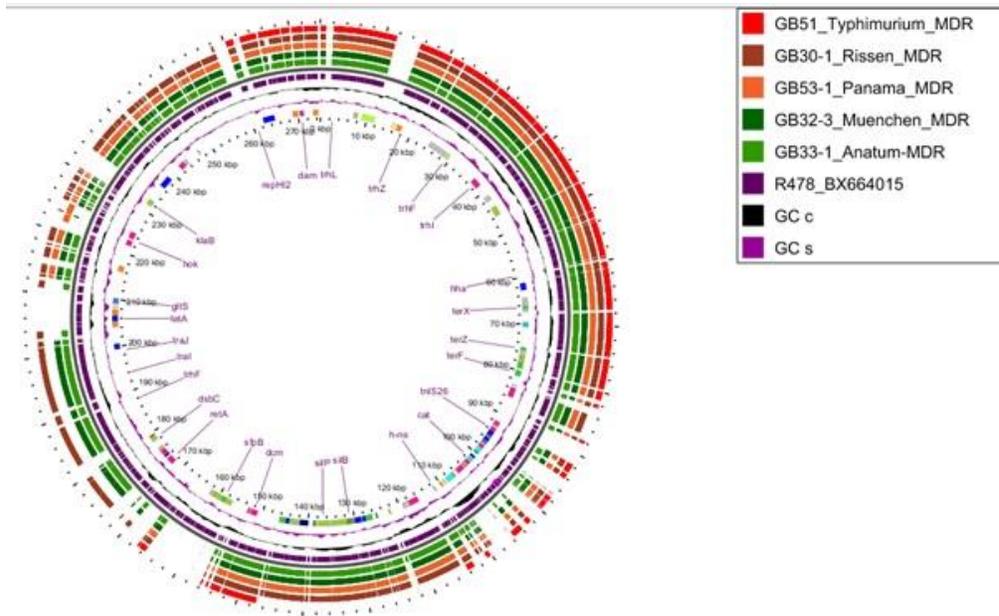


Figura 10. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R478 de 5 cepas de distintos serotipos. El anillo gris es la plantilla, el morado interior corresponde a la secuencia de referencia del plásmido y el más interno muestra la anotación de los genes del plásmido. Los anillos exteriores corresponden a cada una de las cepas con su nombre y respectivo serotipo. MDR: multirresistente. GC c: contenido de guanina-citocina. GC s: variación en el contenido de G-C.

También se encontraron replicones del plásmido de resistencia R64 (AO001547) en seis cepas, tres del serotipo Agona y tres del serotipo Anatum (Cuadro 12). Este plásmido porta genes de resistencia contra tetraciclinas (*tetADR*) y aminoglucósidos (*strAB*). No obstante, a pesar de que más del 70% del plásmido se alineó con los genomas ensamblados, ninguno de estos genes de resistencia se encontró en las cepas bajo estudio (Figura 11).

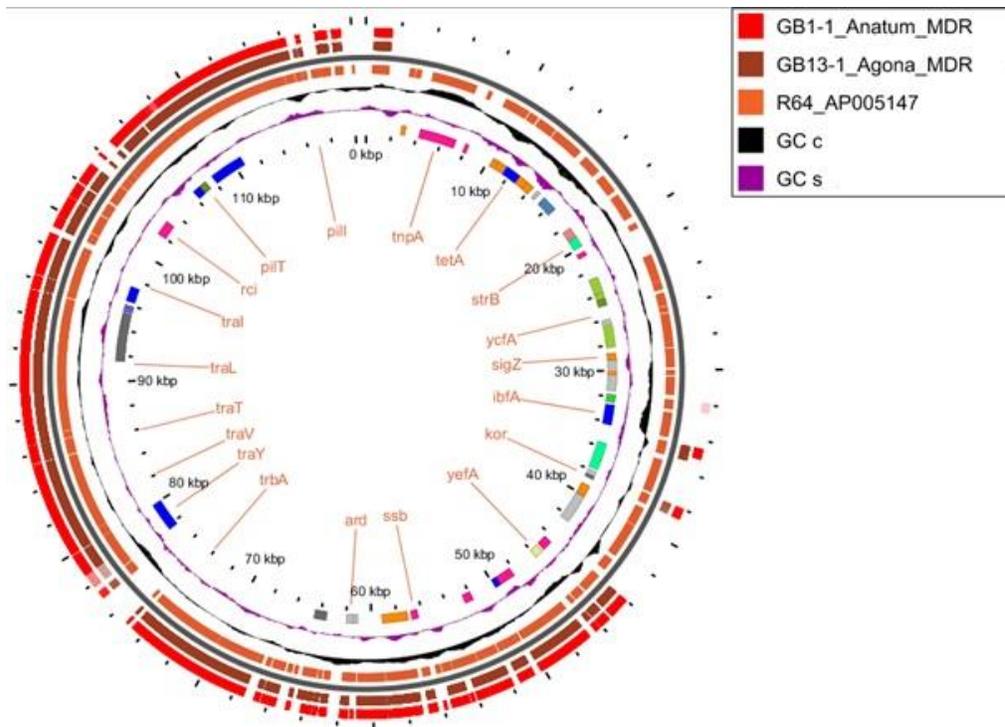


Figura 11. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R64 de 2 cepas de distintos serotipos. El anillo gris es la plantilla, el naranja interior corresponde a la secuencia de referencia del plásmido y el más interno muestra la anotación de los genes del plásmido. Los anillos exteriores corresponden a cada una de las cepas con su nombre y respectivo serotipo. MDR: multirresistente. GC c: contenido de guanina-citocina. GC s: variación en el contenido de G-C.

Finalmente, se encontraron replicones del plásmido R621a (AP011954) únicamente en una cepa del serotipo Anatum. Este plásmido contiene genes de resistencia a tetraciclina (*tetACDR*). Sin embargo, a pesar de que más del 80% del plásmido se encontraba alineado con el genoma de la cepa donde se predijo su presencia, ninguno de estos genes se encontró en este genoma (Figura 12).

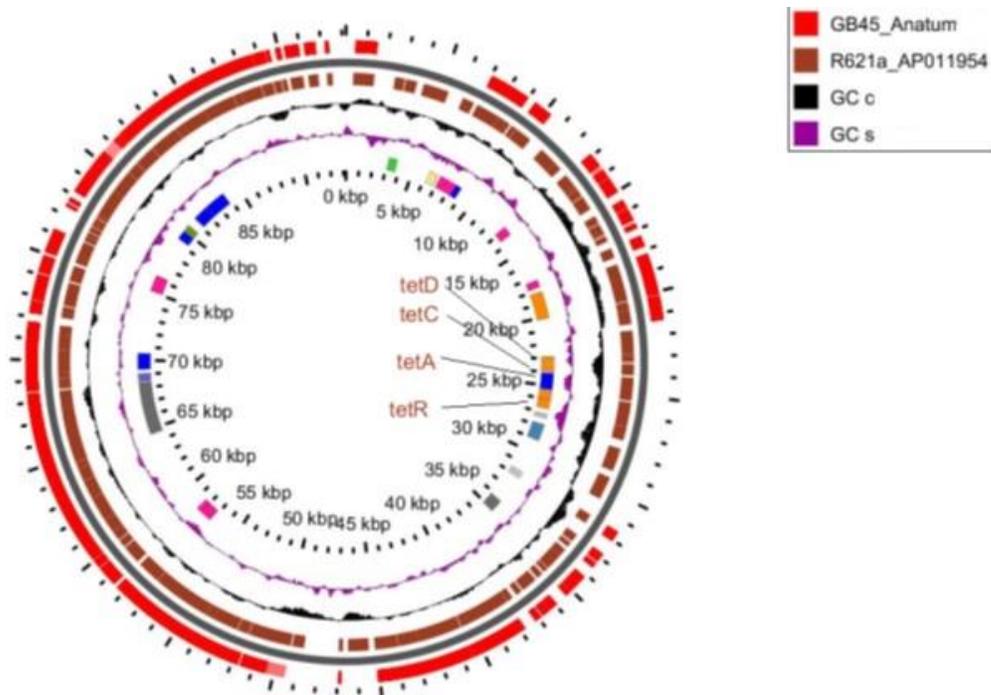


Figura 12. Análisis de atlas de BLAST del plásmido R621a de 1 cepa del serotipo Anatum. El anillo gris es la plantilla, el café interior corresponde a la secuencia de referencia del plásmido y el más interno muestra la anotación de los genes del plásmido. Los anillos exteriores corresponden a cada una de las cepas con su nombre y respectivo serotipo. MDR: multirresistente. GC c: contenido de guanina-citocina. GC s: variación en el contenido de G-C.

3.10 Perfil de integrones y MDR

Los integrones son un mecanismo muy eficaz que tienen las bacterias para la transferencia de varios genes de resistencia de manera simultánea, pues funcionan como plataformas de integración de ADN que permiten a las bacterias captar marcos abiertos de lectura contenidos en lo que se conoce como “casetes de genes” (Gc, por sus siglas en inglés) (Gillings, 2014).

Para las cepas bajo estudio se encontró la presencia de un integrón de clase 1 (Figura 13) en 18 cepas de diferentes serotipos, el cual contenía un casete con genes RAM para aminoglucósidos (*aadA*), inhibidores de la vía del folato (*sul*, *dfrA*) y para una bomba de eflujo de la superfamilia facilitadora mayor (MFS, por sus siglas en inglés) (*qacEdelta-1*), el cual tiene asociación estadística con la presencia del integrón en las cepas bajo estudio [X^2 : 46.29, $P < 0.0001$]. Se encontró también

asociación estadística entre la presencia de este integrón y el perfil fenotípico de MDR en las cepas bajo estudio [χ^2 : 36.90, $P < 0.0001$].

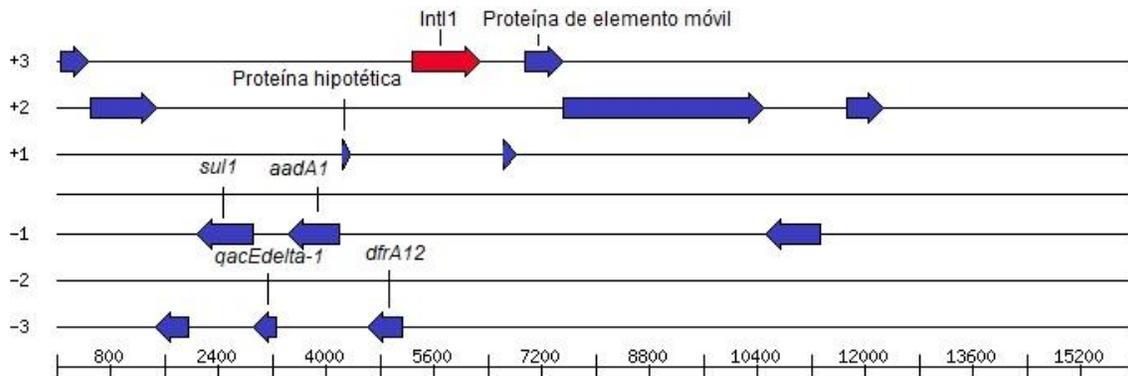


Figura 13. Representación gráfica de un integrón de clase 1 presente en una cepa del serotipo Anatum y con perfil fenotípico de MDR.

Se encontró también la presencia de un integrón de clase 2 en dos cepas, una del serotipo Rissen y otra del serotipo Muenchen, el cual contenía un casete con los genes *aadA5* y *Inu(F)* (Figura 14).

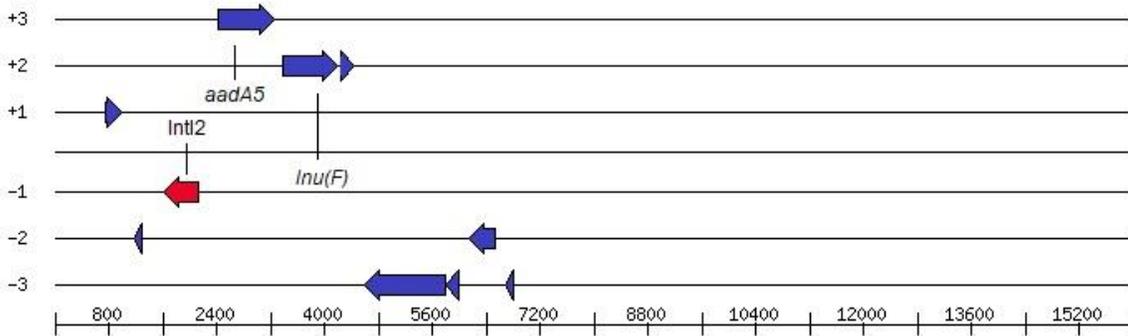


Figura 14. Representación gráfica de un integrón de clase 2 presente en una cepa del serotipo Rissen y con perfil fenotípico de MDR.

4. Filogenia de las cepas de *Salmonella*

El árbol filogenético obtenido para las 109 cepas bajo estudio es monofilético y con ello muestra que hay una gran cercanía genética y una clonalidad intraserotipo y entre serotipos, independientemente de su perfil de resistencia (MDR o no) (Figura 15).

Se encontraron dos clados, uno para las cepas del serotipo Adelaide y otro con el resto de los serotipos, sin embargo, la distancia en SNPs máxima encontrada es de 8.8, lo que explica esa clonalidad encontrada (valor de Bootstrap cercano a 1, para todas las ramas del árbol).

Dada esta clonalidad, se construyó un segundo árbol con un representante de cada serotipo y 17 cepas aisladas de casos clínicos en México y disponibles en la base de datos del NCBI (Figura 16).

Al igual que para el primer árbol se encontró una clonalidad entre las cepas de este estudio y las cepas de casos clínicos en México, pues el árbol es monofilético, solo tiene dos grandes clados, uno con la cepa clínica del serotipo Typhi (*Salmonella* tifoidea) y el otro con las restantes cepas clínicas y las cepas de carne molida y la distancia máxima en SNPs fue de 9.8 (valor de Bootstrap cercano a 1, para todas las ramas del árbol).

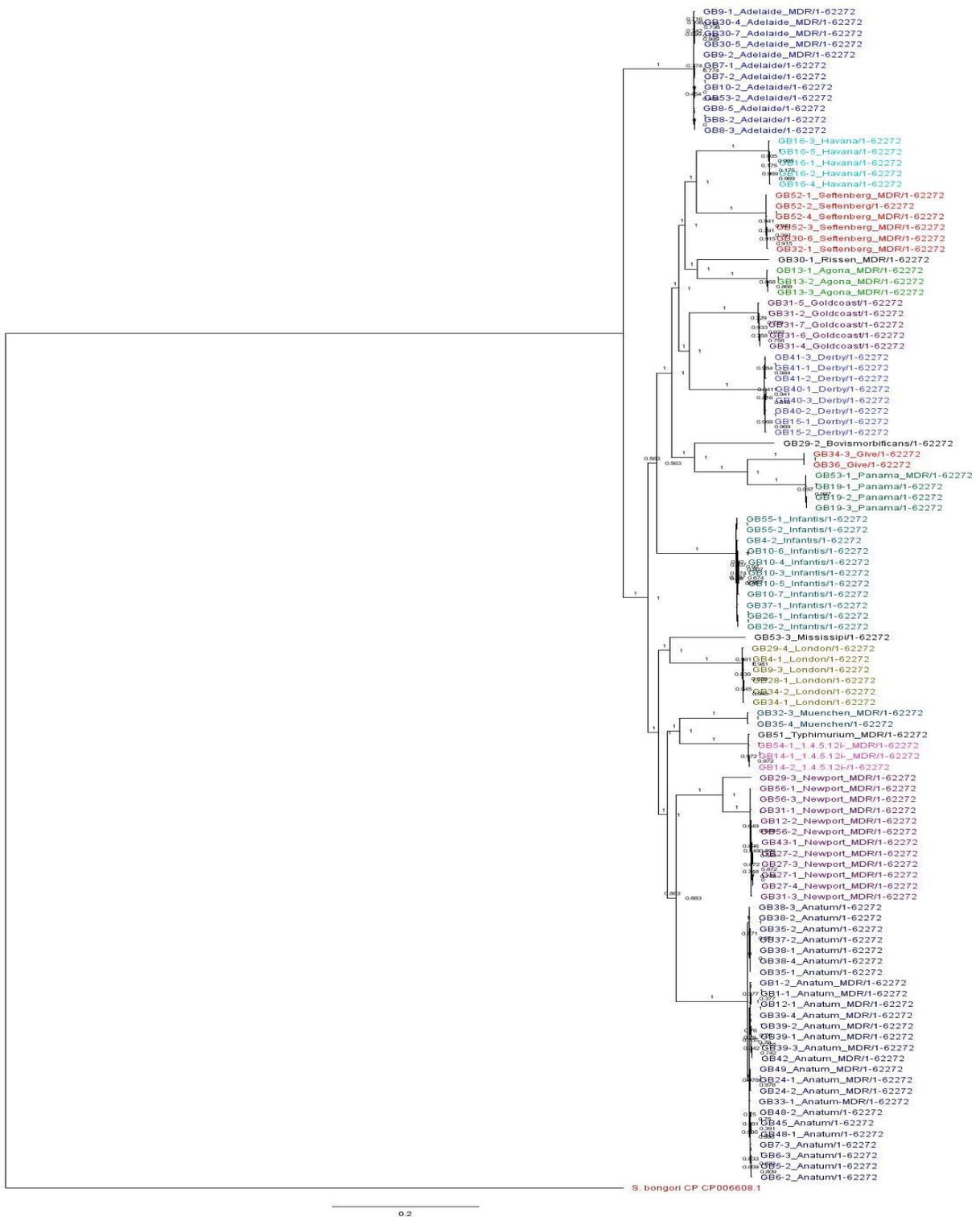


Figura 15. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en SNPs de los 109 genomas de los distintos serotipos encontrados en las cepas de *Salmonella* bajo estudio. El nombre de las cepas corresponde a carne molida (GB), su respectivo número consecutivo y el serotipo. MDR: multirresistente.

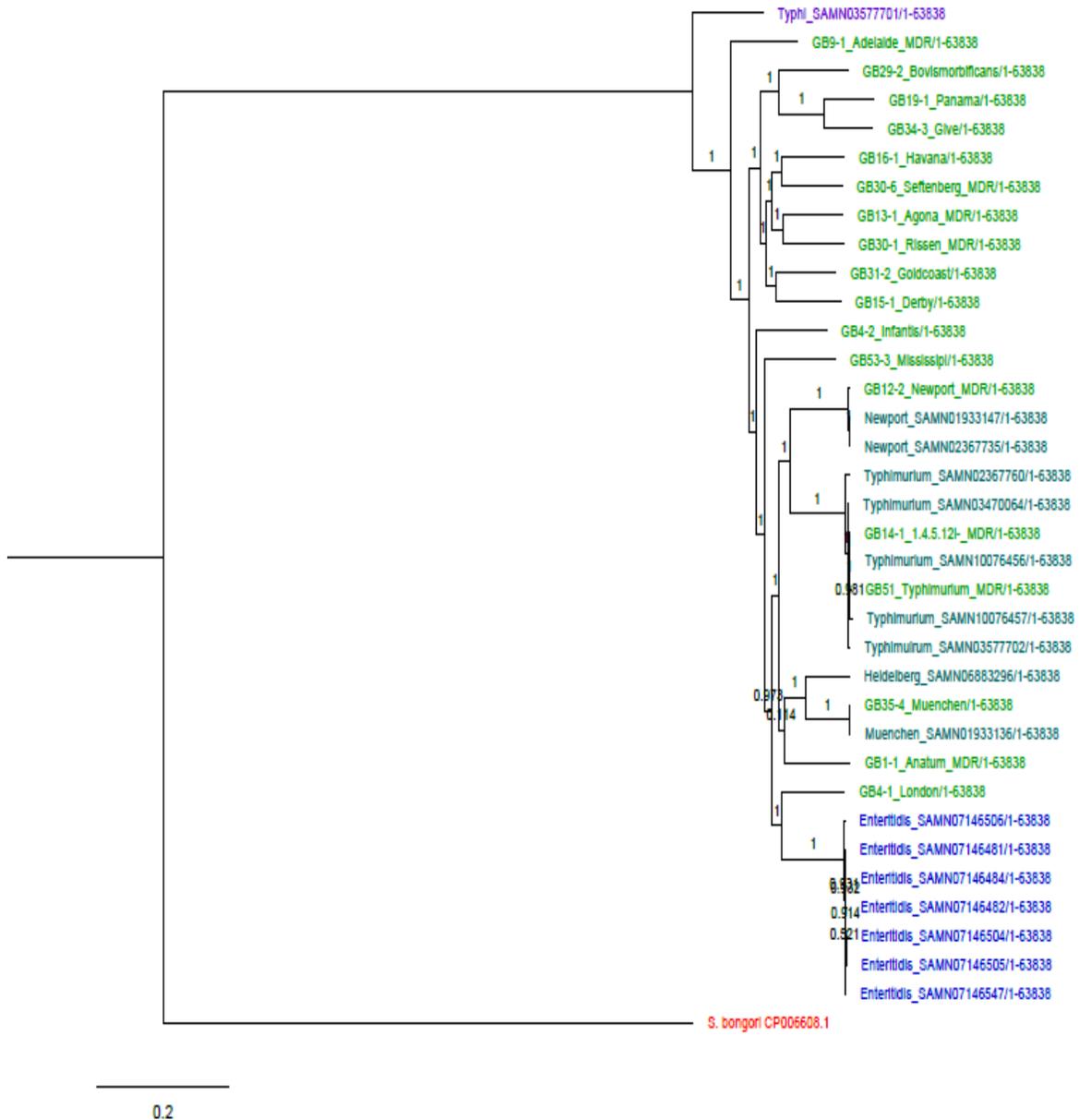


Figura 16. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en SNPs de un representante de cada serotipo encontrado en el estudio y de 17 cepas aisladas de casos clínicos en México. El nombre de las cepas corresponde a carne molida (GB), su respectivo número consecutivo y el serotipo. SAM: número de identificación de la biomuestra en la base de datos de NCBI. MDR: multirresistente.

DISCUSIÓN

La frecuencia de contaminación global encontrada en este estudio (41.7%) representa un valor entre tres y nueve veces superior al observado en estudios previos (Pond et al., 2016; Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Palós-Gutiérrez et al., 2020) con carne de res en Ciudad de México, Guadalajara y Monterrey (5-16%), lo que confirma el papel de la carne de bovino como un reservorio importante de este patógeno en México.

Esta diferencia se puede atribuir a variaciones regionales en términos de prácticas productivas, de matanza y faenado de los bovinos, así como del manejo durante la venta y distribución de la carne. Por lo general, la carne que se expende en el mercado formal presenta niveles de contaminación mucho más bajos que aquella que se vende en tianguis y mercados populares, lo que se refleja en la alta frecuencia encontrada en este estudio, pues la mayoría de las muestras provenían de mercados populares (Pond et al., 2016).

La frecuencia de contaminación con *Salmonella* por ciudad permite dimensionar el riesgo a la salud pública, tomando en cuenta la cantidad de población expuesta a la presencia de este patógeno en la carne de res. De esta forma, el mayor riesgo de exposición se presenta en Toluca (Estado de México), con una frecuencia de contaminación del 70% y una población potencialmente afectada de cerca de 910 608 personas (INEGI, 2020); por otro lado, la ciudad de Tlaxcala (Tlaxcala) con solamente un 10% de frecuencia de contaminación con *Salmonella* y una población de 99 896 de personas, representa la entidad que se presume tiene un menor riesgo de exposición para su población. Es importante mencionar que esto representa un ejercicio para dimensionar el riesgo a la salud pública de *Salmonella*, sin embargo, se requieren más estudios con mayores tamaños de muestra para una estimación más precisa.

De los 18 serotipos encontrados en este estudio, Anatum, Adelaide y Newport fueron los de mayor frecuencia relativa, lo cual difiere de lo encontrado en otros estudios realizados en México y reportados por Godínez-Oviedo et al. (2020), los cuales mencionan a los serotipos Agona, Anatum, Derby, Give y Typhimurium como

los de mayor prevalencia en muestras de carne de res en México. Además, mencionan que estos últimos son los serotipos mayormente aislados de casos clínicos en humanos, lo cual tiene implicaciones en la salud pública, pues demuestra que hay una posible relación entre los casos de salmonelosis en humanos y las posibles fuentes de contaminación con este patógeno.

Por otro lado, es importante añadir que el serotipo Newport, resultó el segundo de mayor distribución geográfica encontrándose en cinco entidades federativas diferentes, lo cual refuerza su papel como uno de los serotipos mayormente distribuidos en el país y de importancia para la salud pública al igual que Godínez-Oviedo et al. (2020) encontraron.

Los fenotipos de resistencia más comunes encontrados en este estudio (tetraciclina, cloramfenicol, estreptomina y trimetoprima-sulfametoxazol), concuerdan con lo encontrado por otros autores en México (Nayarit-Ballesteros et al., 2016; Delgado-Suárez et al., 2021). Con respecto a la baja efectividad de tetraciclinas, fenicoles, aminoglucósidos y sulfonamidas contra SE, los hallazgos son consistentes con la aprobación actual de estas clases de antibióticos para uso en ganadería bovina en México (SENASICA, 2022), lo que explica la resistencia encontrada en las cepas bajo estudio.

Esto es relevante, pues los aminoglucósidos no son efectivos para el tratamiento de salmonelosis y se encuentran en el grupo de importancia crítica de antibióticos (OMS, 2017b), además según los criterios del CLSI (2021), no se deben reportar las cepas como susceptibles, aunque resulten como tal en las pruebas *in vitro*.

En el caso de las tetraciclinas, fenicoles y sulfonamidas, estas clases de antibióticos se encuentran aprobadas para su uso tanto en medicina veterinaria como humana (SENASICA, 2022), lo que aumenta el riesgo de que esta resistencia que muestran las cepas de *Salmonella* que se aíslan de carne de res se disemine hacia las cepas que se encuentran en ambientes hospitalarios, lo que como se ha mencionado en varias ocasiones genera problemas para el tratamiento de estas infecciones y aumenta el riesgo de muerte para las personas (Ma et al., 2018).

Por otro lado, se encontró que la resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación fue baja en las cepas bajo estudio (2-4%), lo cual difiere con otros

estudios que reportan valores entre los 16% y 20% (Schmidt et al., 2015; Mir et al., 2016; Quesada et al., 2016). Estos hallazgos son importantes, pues las cefalosporinas de tercera y cuarta generación se encuentran en el grupo de antibióticos de importancia crítica y máxima prioridad, lo cual implica que son la única alternativa o una de las pocas que quedan para tratar infecciones bacterianas a nivel de centros de atención médica, por lo que el hecho de que sigan teniendo alta eficacia contra *Salmonella*, implican un menor riesgo a nivel de salud pública (OMS, 2017b).

Con respecto a las cepas que mostraron fenotipos MDR, el valor encontrado en este estudio (40.4%) se encuentra dentro del rango observado en otros estudios realizados en México (Nayarit-Ballesteros et al., 2016; de la Garza-García et al., 2020; Palós-Gutiérrez et al., 2020), Venezuela (Narváez-Bravo et al., 2013) y Brasil (Pereira-Fernandes et al., 2017), quienes reportaron frecuencias relativas de cepas de *Salmonella* MDR de entre 26 y 70% y son mayores a los reportados en otros países como Estados Unidos (Webb et al., 2017; Davidson et al., 2018; Lee et al., 2022), Canadá (Bohaychuk et al., 2011; Aslam et al., 2012), Irlanda (Khen et al., 2014) y Bélgica (Ghafir et al., 2005), los cuales están por debajo del 26%. Estos hallazgos son congruentes con lo que se ha reportado acerca de la mayor prevalencia de cepas de *Salmonella* MDR en países en desarrollo respecto de los países desarrollados (CDC, 2016), lo cual podría deberse a factores como: falta de una regulación más estricta en cuanto al adecuado uso de antibióticos, tanto en producción animal como en salud humana; mayor presencia de prácticas inadecuadas y no supervisadas en el uso de antibióticos y finalmente una falta de vigilancia de la resistencia a antibióticos en estos países en desarrollo.

Dentro de las cepas de SE MDR encontradas en este estudio, poco más del 88% resistió a cuatro o más clases de antibióticos, sustentados por genes que se encontraban, tanto en el cromosoma, como en un integrón de clase I. Estos hallazgos son similares a lo encontrados en otros estudios en México (Nayarit-Ballesteros et al., 2016; de la Garza-García et al., 2020; Palós-Gutiérrez et al., 2020), y la relevancia que tienen estos hallazgos es que las clases de antibióticos que se representan en estos fenotipos: tetraciclinas, fenicoles, aminoglucósidos,

sulfonamidas, betalactámicos y macrólidos, forman parte de los grupos de antibióticos de importancia crítica y de gran importancia (OMS, 2017b), y en el caso de los macrólidos también de máxima prioridad, lo cual tiene serias implicaciones desde el punto de vista de salud pública. Estos resultados sugieren que las cepas estudiadas presentan múltiples factores de resistencia.

Los perfiles fenotípicos de MDR encontrados en este estudio se asocian significativamente con el serotipo y con la entidad federativa de procedencia de la muestra y confirma que la adquisición de genes de resistencia es un distintivo de cepas de *Salmonella* epidemiológicamente relevantes (Godínez-Oviedo et al., 2020).

Se encontró que para la resistencia a betalactámicos, las cepas bajo estudio contenían los genes codificantes de betalactamasas de clase A y clase C, y esto es importante, pues se ha determinado que las betalactamasas de espectro extendido (ESBL, por sus siglas en inglés) son las principales preocupaciones en materia de salud pública, pues tienen la capacidad de conferir resistencia a la mayoría de los betalactámicos, pero tienen la ventaja de resistir al ácido clavulánico, mientras que las de clase B o también llamadas metalobetalactamasas tienen una mayor capacidad de conferir resistencia, pues los fenotipos que generan resisten a todos los betalactámicos y al ácido clavulánico (Giuriatti et al., 2017).

En este estudio no fue común encontrar resistencia entre las cepas bajo estudio a cefalosporinas de tercera (3GC) y cuarta generación (4GC), así como no se encontró ninguna cepa resistente a carbapenémicos. Esto concuerda con los hallazgos de estudios previos con *Salmonella* aislada de alimentos en México (Delgado-Suárez et al., 2019; Delgado-Suárez et al., 2021), así como en los EE. UU. (Webb et al., 2017; Davidson et al., 2018; Lee et al., 2022) y Europa (Terentjeva et al., 2017; Pławińska-Czarnak et al., 2022), la cual no constituye una fuente importante de cepas resistentes a estos antibióticos (McDermott et al., 2018).

Tomando en cuenta los resultados, hay que señalar que la resistencia contra 3GC y 4GC y carbapenémicos es muy baja, no obstante, la progresiva pérdida de efectividad de antibióticos menos potentes está conllevando al uso de otros más potentes, como las 3GC y 4GC, en producción animal, como es el caso de las

autorizaciones que hay en México (SENASICA, 2022), lo que plantea la interrogante de si deben seguir usando 3GC en producción animal, dado que hay pocas cepas de *Salmonella* resistentes o conviene retirarlas, para disminuir el riesgo de acelerar la presentación de esta resistencia en un futuro cercano.

En cuanto a resistencia a quinolonas, en este estudio se observaron perfiles de resistencia fenotípica intermedia en un buen número de cepas (41), asociados a la presencia de genes transmitidos por plásmidos de resistencia a quinolonas (PMQR, por sus siglas en inglés), lo cual ha sido reportado previamente por otros autores en México (Delgado-Suárez et al., 2019; Delgado-Suárez et al., 2021) y en Estados Unidos (Yoshida et al., 2016).

Esto es importante, pues la constante aparición de fenotipos de resistencia intermedia a quinolonas en *Salmonella*, ha evidenciado que estos genes que están presentes en elementos genéticos móviles, han contribuido con el fenómeno de diseminación de resistencia a quinolonas entre patógenos bacterianos de diferentes especies (Karczmarczyk et al., 2010; Lin et al., 2015).

En la literatura se ha reportado que la resistencia a las quinolonas no es común entre las cepas de *Salmonella* que han sido aisladas de ganado bovino (Vikram et al., 2013; Smith et al., 2016); no obstante, el enrofloxacino y el ciprofloxacino se encuentran aprobados para su uso veterinario en México (SENASICA, 2022), y esto se presume ha contribuido con la adquisición y conservación de estos genes en *Salmonella*, ya que ambos comparten el mismo mecanismo de resistencia. Sin embargo, los datos encontrados en este estudio no son suficientes para establecer esta relación, por lo que representa un área de investigación que hay que trabajar para dilucidar bien.

Además, se ha reportado en la literatura que la exposición de las cepas de *Salmonella* a concentraciones terapéuticas de quinolonas podría estimular la sobreexpresión de estos genes, conllevando a niveles de resistencia mucho más elevados; de hecho, existe evidencia experimental que relaciona la presencia de los genes *qnrAB* con la emergencia de cepas de *Salmonella* resistentes a ciprofloxacino en alimentos, tanto de origen vegetal, como de origen animal (Karczmarczyk et al., 2010; Lin et al., 2015).

Respecto a la resistencia a macrólidos, se encontró la presencia del gen *mph(A)*, el cual se ha informado es la principal razón de la resistencia a la azitromicina (Glynn et al., 1998), y el cual codifica para una fosfotransferasa responsable de la modificación enzimática de este antibiótico y por ende la pérdida de su efectividad (Hooda et al., 2019) y esto es relevante, pues se ha reportado que existe una asociación entre la presencia del gen *mph(A)* y los perfiles fenotípicos de resistencia a azitromicina (Zhang et al., 2014; Wang et al., 2017).

Se ha descrito también que la resistencia a la azitromicina puede surgir de otros posibles mecanismos, como mutaciones en el gen *acrB* que codifica para una bomba de eflujo de la familia RND, específicamente la mutación R717Q (Wang et al., 2017); sin embargo, todas las cepas bajo estudio, independientemente de si resultaron susceptibles o resistentes a azitromicina mostraron una mutación en este gen (M964T). Por lo tanto, no se puede asociar la presencia de mutaciones en el gen *acrB* con los fenotipos de resistencia encontrados en este estudio.

Otras mutaciones reportadas que pueden contribuir con la resistencia a macrólidos son las que se encuentran en los genes *rlpD* y *rlpV*, responsables de la extrusión de macrólidos de la bacteria (Roberts, 2008), aunque las cepas bajo estudio no portaban estas mutaciones en el genoma.

En cuanto a las tetraciclinas, el principal mecanismo que se encontró en los genomas fue la presencia de los genes que codifican para mecanismos de eflujo, es decir, *tetABM*, los cuales se reportan en la literatura, han sido ampliamente diseminados producto de la presión selectiva y del uso inadecuado de estos antibióticos, tanto en el contexto clínico humano, como en producción animal (Nguyen et al., 2014).

Se ha asociado también que las mutaciones podrían sustentar los fenotipos de resistencia a tetraciclinas y otras clases de antibióticos, como aquellas presentes en el gen *ramR*, el cual codifica para una proteína que reprime la expresión de *ramA* al unirse a su región promotora. Algunas de estas mutaciones como la M83T (Hentschke et al., 2010), y la M1V (Fang et al., 2016), encontradas en las cepas bajo estudio, afectan la afinidad de unión al ADN de RamR y reducen la represión del gen *ramA* y esta interrupción conduce a la sobreexpresión de este, lo que activa

el mecanismo de eflujo, responsable de la resistencia a estos antibióticos (Fernando y Kumar, 2013; Liu y Chen, 2017).

La importancia de estos hallazgos, los cuales además concuerdan con otros estudios en México (Delgado-Suárez et al., 2019; Delgado-Suárez et al., 2021), es que las tetraciclinas son antimicrobianos muy importantes, pues se encuentran entre las pocas alternativas para tratar infecciones humanas causadas por otra bacteria, *Brucella* spp., un patógeno que produce una zoonosis y que está asociado con el ganado bovino (Farrell et al., 1976).

Con respecto a resistencia a cloramfenicol, el principal mecanismo encontrado fue el codificado por el gen *floR*, el cual se ha descrito como el principal mecanismo de resistencia para este antibiótico. La aparición de este gen, cada vez más frecuente en *Salmonella*, es posible que se dé por la presión selectiva a causa del uso intensivo, frecuente y autorizado de otro fenicol (florfenicol) en los animales de producción (SENASICA, 2022), y ambos comparten el mismo mecanismo de resistencia, lo que genera la transmisión de este gen de cepas resistentes a cepas susceptibles (Villalpando-Guzmán et al., 2017; Aguilar-Montes de Oca et al., 2018). En cuanto a la resistencia a los aminoglucósidos, las cepas bajo estudio portaban genes que codificaban mecanismos de inactivación enzimática, como la fosforilación (Scholz et al., 1989), la adenilación (Chen et al., 2007) y acetilación (Ho et al., 2010). A pesar de que el número de cepas resistentes en este estudio no fue tan alto, las pautas del CLSI enfatizan en que estos antibióticos pueden parecer efectivos en análisis *in vitro*, pero no son efectivos a nivel clínico contra *Salmonella* y, por lo tanto, aquellas cepas que resultan susceptibles no deberían reportarse como tal (CLSI, 2021). Esta situación puede explicar por qué las cepas que portaban alelos de los genes *aadA* y *aph* mostraron fenotipos susceptibles, lo cual ya había sido reportado anteriormente (Delgado-Suárez et al., 2019; Delgado-Suárez et al., 2021).

Las cepas bajo estudio mostraron también otros genes de resistencia de grupos de antibióticos que no fueron evaluados en el panel de resistencia fenotípica, como es el caso de los genes de resistencia a fosfomicina. Dicho antibiotico también es considerado de importancia crítica y se usa con frecuencia para tratar infecciones

del tracto urinario en humanos (Beharry y Palzkill, 2005). Sin embargo, también está aprobado para su uso en bovinos y porcinos en México, lo que podría explicar la relativa abundancia de estos genes (SENASICA, 2022).

La presencia del gen *mcr1.1*, que confiere resistencia a la colistina (Liu et al., 2015), es relevante pues los genes de resistencia a polimixinas implican una mayor complicación a nivel de tratamiento de enfermedades y se ha demostrado que la resistencia a la colistina en *Salmonella* no se correlaciona con mutaciones puntuales (Quesada et al., 2015; Baron et al., 2016). Un hallazgo importante fue la del gen *bleO* (Shen et al., 2002), que codifica para la resistencia a bleomicina, que es un agente antitumoral utilizado en entornos clínicos (Mori et al., 2008).

Los genes *qacL* encontrados en las cepas del estudio codifican para una bomba de eflujo de la familia SMR (Ceccarelli et al., 2006) y los *qacE* y *qacEdelta-1* para bombas de eflujo de la familia MFS (Kazama et al., 1999), todos confieren resistencia a desinfectantes y antisépticos.

El gen *qacEdelta-1* se asoció con los perfiles fenotípicos de MDR, lo cual podría ser explicado como una respuesta de *Salmonella* ante el estrés del daño de la membrana ejercido por estos compuestos de amonio cuaternario, lo cual puede promover el reclutamiento de determinantes de resistencia incorporados en integrones junto con otros genes de RAM y de ahí la asociación con los perfiles MDR (Poole, 2012).

A pesar de que las mutaciones en el gen *ramR* se han asociado con perfiles de MDR, todas las cepas bajo estudio presentaron estas mutaciones, y estudios recientes han documentado la diferencia en el impacto de las mutaciones en la región reguladora de *ramRA* en la transcripción de *ramA* y los perfiles de resistencia a antibióticos en *Salmonella*, y este fenómeno podría ser la razón por la que algunos aislados con mutaciones en *ramR* eran pansusceptibles, mono o birresistentes o multirresistentes (Fábrega et al., 2016).

A pesar de que los plásmidos juegan un papel importante en la adquisición y diseminación de genes de resistencia a antibióticos, como se mencionó en la sección de resultados, estos tuvieron una discreta contribución con los fenotipos MDR observados en este estudio, probablemente esto se debió al hecho de que las bacterias ya portaban los genes de resistencia de los plásmidos en el cromosoma,

lo que limita la portación de estos en términos de ventajas adaptativas, lo cual podía resultar en su eventual excisión (Gillings, 2014; Chang et al., 2015).

A pesar de esto, si se detectó que los integrones, especialmente de clase 1, si tenían contribución con los perfiles de MDR (genes para resistencia a inhibidores de la vía del folato y aminoglucósidos), y esto es importante pues los integrones juegan un papel fundamental en los fenotipos MDR, por su plasticidad para incorporar genes de RAM que confieren ventajas adaptativas a *Salmonella* en los contextos productivos, con uso intensivo de biocidas y antibióticos (Poole, 2012).

Finalmente, con respecto a la filogenia de *Salmonella*, la cercanía genética que se encontró para los serotipos de las cepas bajo estudio entre si y con aquellos que provinieron de casos clínicos en humanos concuerda con lo reportado por otros autores (Litrup et al., 2010; Hull et al., 2022), y confirma el rol que tiene la carne de bovino como reservorio de cepas de *Salmonella* capaces de afectar al ser humano.

CONCLUSIONES

La carne de bovino que se expende en las capitales estatales de la región central de México es un reservorio relevante de cepas de *Salmonella* spp., y un porcentaje moderado de estas presenta un perfil de multi-resistencia que involucra a antibióticos de importancia en medicina humana.

La diversidad de genes de resistencia global obtenida muestra que *Salmonella* es una bacteria que ha desarrollado una importante cantidad de mecanismos de resistencia (codificados tanto en cromosoma como en plásmidos e integrones).

La filogenia de las cepas de *Salmonella* mostró que existe una cercanía genética entre los diversos serotipos encontrados y cepas aisladas de casos clínicos en humanos, lo que refuerza el papel de la carne de res como reservorio importante de este patógeno que genera infecciones en humanos.

Aunque este estudio demuestra la relevancia de *Salmonella* como patógeno asociado con la carne de res y ofrece datos sobre sus perfiles de resistencia fenotípicos y genotípicos, es de un alcance limitado dado el bajo tamaño de muestra utilizado, por lo tanto, es conveniente que se realicen investigaciones de mayor alcance para obtener estimaciones más precisas y caracterizar de forma más completa las poblaciones de *Salmonella* que circulan en este nicho ecológico.

REFERENCIAS

- 1- Abouzeed, Y.M., Baucheron, S., Cloeckaert, A. 2008. *ramR* mutations involved in efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 52(7): 2428–5434. doi: 10.1128/AAC.00084-08 PMID: 18443112.
- 2- Abraham, R., Sahibzada, S., Jordan, D., O'Dea, M., Hampson, D.J., McMillan, K., Duffy, L., Mellor, G., Barlow, R., Abraham, S. 2022. Antimicrobial resistance and genomic relationships of *Salmonella enterica* from australian cattle. *International Journal of Food Microbiology*. 371: 109672. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109672.
- 3- Aguilar-Barojas, S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*. 11(1-2): 333-338.
- 4- Aguilar-Montes de Oca, S., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J., Vázquez-Navarrete, J., Acosta-Dibarrat, J., Salgado-Miranda, C. 2018. Phenotypic and genotypic profile of clinical and animal multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from Mexico. *Journal of Applied Microbiology*. 124(1): 67-74. doi: 10.1111/jam.13615.
- 5- Ahmed, A., Shimamoto, T., Shimamoto, T. 2014. Characterization of integrons and resistance genes in multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolated from meat and dairy products in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*. 189: 39–44. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.031.
- 6- Ahsan, S., Rahman, S. 2019. Azithromycin resistance in clinical isolates of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi in Bangladesh. *Microbial Drug Resistance*. 25(1): 8-13. doi: 10.1089/mdr.2018.0109.
- 7- Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J., Handelsman, J. 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*. 8(4): 251-259. doi: 10.1038/nrmicro2312.
- 8- Almeida, F., Aparecida-Seribelli, A., Czentini-Medeiros, M., dos Prazeres-Rodrigues, D., de Mello-Varani, A., Luo, Y., Allard, M.W., Pfrimer-Falcão, J. 2018.

Phylogenetic and antimicrobial resistance gene analysis of *Salmonella* Typhimurium strains isolated in Brazil by whole genome sequencing. PLoS ONE. 13(8): e0201882. doi: 10.1371/journal.pone.0201882.

9- Andrews, S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Disponible en: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>

10- Antunes, P., Machado, J., Sousa, J.C., Peixe, L. 2005. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 49(2): 836-839. doi: 10.1128/AAC.49.2.836-839.2005.

11- Aslam, M., Checkley, S., Avery, B., Chalmers, G., Bohaychuk, V., Gensler, G., Reid-Smith, R., Boerlin, P. 2012. Phenotypic and genetic characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* serovars isolated from retail meats in Alberta, Canada. Food Microbiology. 32(1): 110-117. doi: 10.1016/j.fm.2012.04.017.

12- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A.A., Dvorkin, M., Kulikov, A.S., Lesin, V., Nikolenko, S., Pham, S., Pribelski, A., Pyshkin, A., Sirotkin, A., Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M., Pevzner, P. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single cell sequencing. Journal of Computational Biology. 19(5): 455–477. doi: 10.1089/cmb.2012.0021.

13- Barlow, R.S., McMillan, K.E., Duffy, L.L., Fegan, N., Jordan, D., Mellor, G.E. 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* and *Escherichia coli* from australian cattle populations at slaughter. Journal of Food Protection. 78(5): 912-920. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-476.

14- Baron, S., Hadjadj, L., Rolain, J.M., Olaitan, A.O. 2016. Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. International Journal of Antimicrobial Agents. 48(6): 583-591. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.06.023.

15- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. American Journal of Clinical Pathology. 45: 493. doi: 10.1093/ajcp/45.4_ts.493.

- 16-** Beharry, Z., Palzkill, T. 2005. Functional analysis of active site residues of the fosfomycin resistance enzyme FosA from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Chemistry*. 280(18): 17786-91. doi: 10.1074/jbc.M501052200.
- 17-** Bengtsson-Palme, J., Kristiansson, E., Larsson, D.G.J. 2018. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 42(1): fux053. doi: 10.1093/femsre/fux053.
- 18-** Bissonnette, L., Champetier, S., Buisson, J.P., Roy, P.H. 1991. Characterization of the nonenzymatic chloramphenicol resistance (*cmIA*) gene of the In4 integron of Tn1696: similarity of the product to transmembrane transport proteins. *Journal of Bacteriology*. 173(14): 4493-502. doi: 10.1128/jb.173.14.4493-4502.1991.
- 19-** Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., Piddock, L.J.V. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 13(1): 42-51. doi: 10.1038/nrmicro3380.
- 20-** Bogomolnaya, L.M., Andrews, K.D., Talamantes, M., Maple, A., Ragoza, Y., Vazquez-Torres, A., Andrews-Polymenis, H. 2013. The ABC-Type efflux pump MacAB protects *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from oxidative stress. *mBio*. 4(6): e00630-13. doi: 10.1128/mBio.00630-13.
- 21-** Bohaychuk, V.M., Gensler, G.E., Barrios, P.R. 2011. Microbiological baseline study of beef and pork carcasses from provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *The Canadian Veterinary Journal*. 52(10): 1095-100. PMID: 22467964.
- 22-** Bolger, A.M., Lohse, M., Usadel, B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 15: 2114–2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170.
- 23-** Bortolaia, V., Kaas, R.F., Ruppe, E., Roberts, M.C., Schwarz, S., Cattoir, V., Philippon, A., Allesoe, R.L., Rebelo, A.R., Florensa, A.R., Fagelhauer, L., Chakraborty, T., Neumann, B., Werner, G., Bender, J.K., Stingl, K., Nguyen, M., Coppens, J., Xavier, B.B., Malhotra-Kumar, S., Westh, H., Pinholt, M., Anjum, M.F., Duggett, N.A., Kempf, I., NykÅsenoja, S., Olkkola, S., Wiczorek, K., Amaro, A., Clemente, L., Mossong, J., Losch, S., Ragimbeau, C., Lund, O., Aarestrup, F.M. 2020. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from

genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 75(12): 3491-3500. doi: 10.1093/jac/dkaa345.

24- Buckley, A.M., Webber, M.A., Cooles, S., Randall, L.P., La Ragione, R.M., Woodward, M.J., Piddock, L.J. 2006. The AcrAB-TolC efflux system of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium plays a role in pathogenesis. *Cellular Microbiology*. 8(5): 847-856. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00671.x.

25- Bush, K., Jacoby, G.A., Medeiros, A.A. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39(6): 1211-1233. doi: 10.1128/AAC.39.6.1211.

26- Caballero, M. 2007. Determinación de *Salmonella* spp. y endoparásitos en zanates (*Quiscalus mexicanus*) del parque de Cañas, Guanacaste. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 16: 27-35. ISSN 1409-1429.

27- Caffer, M., Terragno, R., Binsztein, N. 2008. Manual de procedimientos diagnósticos y caracterización de *Salmonella* spp. Panalimentos. 19pp.

28- Carattoli, A. 2008. Animal reservoirs for extended spectrum b-lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infectious Disease*. 14(Suppl. 1): 117-123. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01851.x.

29- Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Larsen, M.V., Lund, O., Villa, L., Møller-Aarestrup, F., Hasman, H. 2014. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 58(7): 3895–903. doi: 10.1128/AAC.02412-14.

30- CDC (Center for Diseases Control and Prevention). 2016. National enteric disease surveillance: *Salmonella* Annual Report, 2016. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Disease. Estados Unidos. 87pp.

31- Ceccarelli, D., Salvia, A.M., Sami, J., Cappuccinelli, P., Colombo, M.M. 2006. New cluster of plasmid-located class 1 integrons in *Vibrio cholerae* O1 and a *dfrA15* cassette-containing integron in *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Angola. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 50(7): 2493-9. doi: 10.1128/AAC.01310-05.

- 32-** Chang, H.H., Cohen, T., Grad, Y.H., Hanage, W.P., O'Brien, T.F., Lipsitch, M. 2015. Origin and proliferation of multiple drug resistance in bacterial pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 79(1): 101–16. doi: 10.1128/MMBR.00039-14.
- 33-** Chen, Y.T., Lauderdale, T.L., Liao, T.L., Shiao, Y.R., Shu, H.Y., Wu, K.M., Yan J.J., Su, I.J., Tsai, S.F. 2007. Sequencing and comparative genomic analysis of pK29, a 269-kilobase conjugative plasmid encoding *CMY-8* and *CTX-M-3* beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 51(8): 3004300-7. doi: 10.1128/AAC.00167-07.
- 34-** Chuard, D. 2015. Caracterización de mecanismos involucrados en la resistencia a cefalosporina de tercera generación en aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* no Typhi aisladas en Santa Fe en el año 2014. XIX Encuentro de jóvenes investigadores. Universidad Nacional del Litoral Secretaría de Ciencia y Técnica. Santa Fe, Argentina. 14pp.
- 35-** CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2021. M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 31th Ed. 282pp.
- 36-** Cox, G., Wright, G.D. 2013. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*. 303(6-7): 287-292. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009.
- 37-** Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M., Finlay, B.B. 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 26(4): 822-880. doi: 10.1128/CMR.00022-13.
- 38-** Davidson, K.E., Byrne, B.A., Pires, A.F.A., Magdesian, K.G., Pereira, R.V. 2018. Antimicrobial resistance trends in fecal *Salmonella* isolates from northern California dairy cattle admitted to a veterinary teaching hospital, 2002-2016. *PLoS One*. 13(6): e0199928. doi: 10.1371/journal.pone.0199928.
- 39-** de la Garza-García, J., Rubio-Lozano, M., Wachter-Rodarte, M., Navarro-Ocaña, A., Hernández-Castro, R., Xicohtencatl-Cortes, J., Delgado-Suárez, E. 2020. Frecuencia de contaminación y de serotipos de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* en una operación integrada de matanza y deshuese de bovinos.

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 11(4): 971-990. doi: doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5111.

40- Delgado, E. 2021a. *Salmonella* spp. detection and isolation. doi: https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpybmpsn.

41- Delgado, E. 2021b. *Salmonella* spp. antibiotic susceptibility testing by the Kirby-Bauer disk diffusion method. doi: https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bpympvvn.

42- Delgado-Suárez, E., Ortíz-López, R., Gebreyes, W., Allard, M., Barona-Gómez, F., Rubio-Lozano, M. 2019. Genomic surveillance links livestock production with the emergence and spread of multi-drug resistant non-typhoidal *Salmonella* in Mexico. *Journal of Microbiology*. 57. doi: 10.1007/s12275-019-8421-3.

43- Delgado-Suárez, E., Palós-Guitérrez, T., Ruíz-López, F., Hernández-Pérez, C., Nayarit-Ballesteros, N., Soberanis-Ramos, O., Méndez-Medina, D., Allard, M., Rubio-Lozano, M. 2021. Genomic surveillance of antimicrobial resistance shows cattle and poultry are a moderate source of multi-drug resistant nontyphoidal *Salmonella* in Mexico. *PLoS ONE*. 16(5): e0243681. doi: 10.1371/journal.pone.0243681.

44- Delgado-Suárez, E., Selem-Mojica, N., Ortiz-López, R., Gebreyes, W., Allard, M., Barona-Gómez, F., Rubio-Lozano, M. 2018. Whole genome sequencing reveals widespread distribution of typhoidal toxin genes and VirB/D4 plasmids in bovine-associated nontyphoidal *Salmonella*. *Scientific Reports*. 8(1): 9864. doi: 10.1038/s41598-018-28169-4.

45- Dirección General de Epidemiología. 2020. Anuarios de morbilidad 1984 a 2019. Secretaría de Salud. Programas y Acciones. Gobierno de México.

46- Du, D., Wang-Kan, X., Neuberger, A., van Veen, H.W., Pos, K.M., Piddock, L.J.V., Luisi, B.F. 2018. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. *Nature Reviews Microbiology*. 16(9): 523-539. doi: 10.1038/s41579-018-0048-6.

47- Eguale, T., Engidawork, E., Gebreyes, W.A., Asrat, D., Alemayehu, H., Medhin, G., Johnson, R.P., Gunn, J.S. 2016. Fecal prevalence, serotype

distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* in dairy cattle in central Ethiopia. BMC Microbiology. 16: 20. doi: 10.1186/s12866-016-0638-2.

48- Fábrega, A., Ballesté-Delpierre, C., Vila, J. 2004. Differential impact of *ramRA* mutations on both *ramA* transcription and decreased antimicrobial susceptibility in *Salmonella* Typhimurium. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 71(3): 617-24. doi: 10.1093/jac/dkv410.

49- Falagas, M.E., Karageorgopoulos, D.E. 2008. Pandrug resistance (PDR), extensive drug resistance (XDR), and multidrug resistance (MDR) among gram-negative bacilli: need for international harmonization in terminology. Clinical Infectious Disease. 46: 1121-1132. doi: 10.1086/528867.

50- FAO (Food and Agriculture Organization for United Nations). 2017. The future of food and agriculture: Trends and challenges. Roma, Italia. 280pp.

51- Farrell, I.D., Hinchliffe, P.M., Robertson, L. 1976. Sensitivity of *Brucella* spp. to tetracycline and its analogues. Journal of Clinical Pathology. 29(12): 1097-100. doi: 10.1136/jcp.29.12.1097.

52- Feldgarden, M., Brover, V., González-Escalona, N., Frye, J.G., Haendiges, J., Haft, D.H., Hoffmann, M., Pettengill, J., Prasad, A.B., Tillman, G., Tyson, G.H., Klimke, W. 2021. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. Scientific Reports. 11: 12728. doi: 10.1038/s41598-021-91456-0.

53- Fernando, D.M., Kumar, A. 2013. Resistance-Nodulation-Division multidrug efflux pumps in Gram-negative bacteria: Role in virulence. Antibiotics (Basel). 2(1): 163-81. doi: 10.3390/antibiotics2010163.

54- Foley, S.L., Lynne, A.M. 2008. Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. Journal of Animal Science. 86(14 Suppl): E173-187. doi: 10.2527/jas.2007-0447.

55- Frech, G., Kehrenberg, C., Schwarz, S. 2003. Resistance phenotypes and genotypes of multiresistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium var. Copenhagen isolates from animal sources. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 51(1): 18018-2. doi: 10.1093/jac/dkg058.

- 56-** Geresu, M.A., Desta, W.Z. 2021. Carriage, risk factors, and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates from raw beef in Jimma, southwestern Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*. 14: 2349-2360. doi: 10.2147/IDR.S313485.
- 57-** Ghafir, Y., China, B., Korsak, N., Dierick, K., Collard, J.M., Godard, C., De Zutter, L., Daube, G. 2005. Belgian surveillance plans to assess changes in *Salmonella* prevalence in meat at different production stages. *Journal of Food Protection*. 68(11): 2269-2277. doi: 10.4315/0362-028x-68.11.2269.
- 58-** Gillings, M.R. 2014. Integrons: past, present, and future. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 78(2): 257-277. doi: 10.1128/MMBR.00056-13.
- 59-** Giuriatti, J., Stefani, L., Brisola, M., Crecencio, R., Bitner, D., Faria, G. 2017. *Salmonella* Heidelberg: Genetic profile of its antimicrobial resistance related to extended spectrum β -lactamases (ESBLs). *Microbial Pathogenesis*. 109: 195–199. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109044.
- 60-** Glynn, M.K., Bopp, C., Dewitt, W., Dabney, P., Mokhtar, M., Angulo, F.J. 1998. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 infections in the United States. *The New England Journal of Medicine*. 338(19): 1333-1338. doi: 10.1056/NEJM199805073381901.
- 61-** Godinez-Oviedo, A., Tamplin, M.L., Bowman, J.P., Hernandez-Iturriaga, M. 2020. *Salmonella enterica* in Mexico 2000–2017: epidemiology, antimicrobial resistance, and prevalence in food. *Foodborne Pathogen and Diseases*. 17(2): 98–118. doi: 10.1089/fpd.2019.2627.
- 62-** Grimont, P., Weill, F. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9th Edition. World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. Institut Pasteur, Paris, Francia. 166 pp.
- 63-** Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., Tesler, G. 2013. QUASt: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 29: 1072–1075. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086.
- 64-** Gutiérrez, C., Paasch, M., Calderón, A. 2008. Salmonellosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Revista Veterinaria México*. 39(1): 81-90. ISSN 0301-5092.

- 65-** Hansen, D.L.H., Sørensen, S.J., Jørgensen, H.S., Jensen, L.B. 2005. The prevalence of the OqxAB multidrug efflux pump amongst olaquinox-resistant *Escherichia coli* in pigs. *Microbial Drug Resistance*. 11(4): 378-382. doi: 10.1089/mdr.2005.11.378.
- 66-** Hentschke, M., Wolters, M., Sobottka, I., Rohde, H., Aepfelbacher, M. 2010. *ramR* mutations in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to tigecycline. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 54(6): 2720-2723. doi: 10.1128/AAC.00085-10.
- 67-** Hiko, A., Irsigler, H., Bräutigam, L., Ameni, G., Fries, R., Maximilian, B. 2018. Antimicrobial resistance and genotypic profiles of *Salmonella* Saintpaul isolated along beef processing and distribution continuum. *Heliyon*. 4(12): e01025. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01025.
- 68-** Ho, P.L., Wong, R.C., Lo, S.W., Chow, K.H., Wong, S.S., Que, T.L. 2010. Genetic identity of aminoglycoside-resistance genes in *Escherichia coli* isolates from human and animal sources. *Journal of Medical Microbiology*. 59(6): 702-707. doi: 10.1099/jmm.0.015032-0.
- 69-** Hooda, Y., Sajib, M.S.I., Rahman, H., Luby, S.P., Bondy-Denomy, J., Santosham, M., Andrews, J.R., Saha, S.K., Saha, S. 2019. Molecular mechanism of azithromycin resistance among typhoidal *Salmonella* strains in Bangladesh identified through passive pediatric surveillance. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 13(11): e0007868. doi: 10.1371/journal.pntd.0007868.
- 70-** Hopkins, K.L., Davies, R.H., Threlfall, E.J. 2005. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 25(5): 358-373. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006.
- 71-** Huddleston, J.R. 2014. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infection and Drug Resistance*. 7: 167-176. doi: 10.2147/IDR.S48820.
- 72-** Hull, D.M., Harrell, E., Harden, L., Thakur, S. 2022. Multidrug resistance and virulence genes carried by mobile genomic elements in *Salmonella enterica* isolated from live food animals, processed, and retail meat in North Carolina,

2018-2019. International Journal of Food Microbiology. 378: 109821. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109821.

73- Hur, J., Jawale, C., Lee, J.H. 2012. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. Food Research International. 45(2): 819-830. doi: 10.1016/j.foodres.2011.05.014.

74- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2020. Censo de Población y Vivienda 2020. Ciudad de México. México. Recuperado de <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/#Documentacion>. Consultado el 19 de octubre de 2022.

75- Jacobsen, A., Hendriksen, R.S., Aaresturp, F.M., Ussery, D.W., Friis, C. 2011. The *Salmonella enterica* pan-genome. Microbial Ecology. 62(3): 487-504. doi: 10.1007/s00248-011-9880-1.

76- Jawetz, M., Brooks, F., Butel, J., Melnick, J., Ornoston, L., Aldberg, E. 2005. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16 Ed. México DF. Editorial El Manual Moderno. 285pp.

77- Jia, B., Raphenya, A.R., Alcock, B., Waglechner, N., Guo, P., Tsang, K.K., Lago, B., Dave, B., Pereira, S., Sharma, A., Doshi, S., Courtot, M., Lo, R., Williams, L., Frye, J., Elsayegh, T., Sardar, D., Westman, E., Pawlowski, A., Johnson, T., Brinkman, F., Wright, G., McArthur, A. 2017. CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. Nucleic Acids Research. 45(D1): D566-D573. doi: 10.1093/nar/gkw1004.

78- Jibril, A.H., Okeke, I.N., Dalsgaard, A., Menéndez, V.G., Olsen, J.E. 2021. Genomic analysis of antimicrobial resistance and resistance plasmids in *Salmonella* Serovars from poultry in Nigeria. Antibiotics (Basel). 10(2): 99. doi: 10.3390/antibiotics10020099.

79- Jiménez-Pearson, M.A., Galas, M., Corso, A., Hormazábal, J.C., Duarte-Valderrama, C., Salgado-Marcano, N., Ramón-Pardo, P., Melano, R. 2019. Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes. Revista Panamericana de Salud Pública. 43: e65.

- 80-** Karczmarczyk, M., Martins, M., McCusker, M., Mattar, S., Amaral, L., Leonard, N., Aarestrup, F.M., Fanning, S. 2010. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* food and animal isolates from Colombia: identification of a *qnrB19*-mediated quinolone resistance marker in two novel serovars. *FEMS Microbiology Letters*. 313(1): 10-19. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02119.x.
- 81-** Kazama, H., Hamashima, H., Sasatsu, M., Arai, T. 1999. Characterization of the antiseptic-resistance gene *qacEdelta-1* isolated from clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* non-O1. *FEMS Microbiology Letters*. 174(2): 379-84. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13593.x.
- 82-** Khen, B.K., Lynch, O.A., Carroll, J., McDowell, D.A., Duffy, G. 2014. Prevalence and characteristics of *Salmonella* in the beef chain in the Republic of Ireland. *Zoonoses Public Health*. 61(8): 534-536. doi: 10.1111/zph.12099.
- 83-** Kirbis, A., Krizman, M. 2015. Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and vice versa. *Procedia Food Science*. 5: 148–151. doi: 10.1016/j.profoo.2015.09.043.
- 84-** Koohmaraie, M., Scanga, J.A., de La Zerda, M.J., Koohmaraie, B., Tapay, L., Beskhlebnaya, V., Mai, T., Greeson, K., Samadpour, M. 2012. Tracking the sources of *Salmonella* in ground beef produced from nonfed cattle. *Journal of Food Protection*. 75(8): 1464-1468. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-540.
- 85-** Koutsolioutsou, A., Peña-Llopis, S., Demple, B. 2005 Constitutive *soxR* mutations contribute to multiple-antibiotic resistance in clinical *Escherichia coli* isolates. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 49(7): 2746-52. doi: 10.1128/AAC.49.7.2746-2752.2005.
- 86-** Lawrence, K.E., Wakeford, L., Toombs-Ruane, L.J., MacLachlan, C., Pfeffer, H., Gibson, I.R., Benschop, J., Riley, C.B. 2019. Bacterial isolates, antimicrobial susceptibility and multidrug resistance in cultures from samples collected from beef and pre-production dairy cattle in New Zealand (2003-2016). *New Zealand Veterinary Journal*. 67(4): 180-187. doi: 10.1080/00480169.2019.1605943.

- 87-** Lee, J.H., Takahashi, M., Jeon, J.H., Kang, L.W., Seki, M., Park, K.S. 2019. Dual activity of PNGM-1 pinpoints the evolutionary origin of subclass B3 metallo-beta-lactamases: a molecular and evolutionary study. *Emerging Microbes & Infections*. 8(1) :1688–700. doi: 10.1080/22221751.2019.1692638.
- 88-** Lee, K.Y., Atwill, E.R., Pitesky, M., Huang, A., Lavelle, K., Rickard, M., Shafii, M., Hung-Fan, M., Li, X. 2022. Antimicrobial resistance profiles of non-typhoidal *Salmonella* from retail meat products in California, 2018. *Frontiers in Microbiology*. 13: 835699. doi: 10.3389/fmicb.2022.835699.
- 89-** Li, J., Zhang, H., Ning, J., Sajid, A., Cheng, G., Yuan, Z., Hao, H. 2019. The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. 8: 44. doi: 10.1186/s13756-019-0489-3.
- 90-** Lin, D., Chen, K., Wai-Chi, C., Chen, S. 2015. Increasing prevalence of ciprofloxacin-resistant food-borne *Salmonella* strains harboring multiple PMQR elements but not target gene mutations. *Scientific Reports*. 5: 14754. doi: 10.1038/srep14754.
- 91-** Litrup, E., Torpdahl, M., Malorny, B., Huehn, S., Christensen, H., Nielsen, E.M. 2010. Association between phylogeny, virulence potential and serovars of *Salmonella enterica*. *Infection, Genetics and Evolution*. 10(7): 1132113-9. doi: 10.1016/j.meegid.2010.07.015.
- 92-** Liu, Y.Y., Chen, C.C. 2017. Computational analysis of the molecular mechanism of *ramR* mutations contributing to antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*. *Scientific Reports*. 7: 13418. doi: 10.1038/s41598-017-14008-5.
- 93-** Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Yi, L.X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L.F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J.H., Shen, J. 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 16(2): 161-168. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.

- 94-** Liu, S., Wang, P., Wang, X., Chen, J. 2021. Ecological insights into the elevational biogeography of antibiotic resistance genes in a pristine river: Metagenomic analysis along the Yarlung Tsangpo River on the Tibetan Plateau. *Environmental Pollution*. 286: 117101. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117101.
- 95-** Loudon, B. C., Haarmann, D., Han, J., Foley, S. L., Lynne, A. M. 2012. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from food animals in the U.S. *Food Research International*. 45: 968–972. doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.055.
- 96-** Ma, Y., Li, M., Xu, X., Fu, Y., Xiong, Z., Zhang, L., Qu, X., Zhang, H., Wei, Y., Zhan, Z., Chen, Z., Bai, J., Liao, M., Zhang, J. 2018. High-levels of resistance to quinolone and cephalosporin antibiotics in MDR-ACSSuT *Salmonella enterica* serovar Enteritidis mainly isolated from patients and foods in Shanghai, China. *International Journal of Food Microbiology*. 286: 190-196. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.022.
- 97-** Magiorakos, A., Srinivasan, R., Carey, Y., Carmeli, M., Falagas, C., Giske, S., Harbarth, J., Hindler, G., Kahlmeter, B., Olsson-Liljequist, D., Paterson, L., Rice, J., Stelling, M., Struelens, A., Vatopoulos, J., Weber, D., Monnet, L. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*. 18: 268–281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- 98-** Mazel, D. 2006. Integrons: agents of bacterial evolution. *Nature Reviews Microbiology*. 4(8): 608-620. doi: 10.1038/nrmicro1462.
- 99-** Mazel, D., Davies, J. 1999. Antibiotic resistance in microbes. *Cellular and Molecular Life Science*. 56: 742-754. doi: 10.1007/s000180050021.
- 100-** McDermott, P.F., Zhao, S., Tate, H. 2018. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Microbiology Spectrum*. 6(4). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0014-2017.
- 101-** Mengistu, D., Tolera, S. 2020. Prevalence of microorganisms of public health significance in ready-to-eat foods sold in developing countries: Systematic review

and meta-analysis. Hindawi International Journal of Food Science. 2020: 1-9. doi: 10.1155/2020/8867250.

102- Mir, R.A., Weppelmann, T.A., Johnson, J.A., Archer, D., Morris, J.G., Jeong, K.C. 2016. Identification and characterization of cefotaxime resistant bacteria in beef cattle. PLoS One. 11: e0163279. doi: 10.1371/journal.pone.0163279.

103- Moawad, A.A., Hotzel, H., Awad, O., Tomaso, H., Neubauer, H., Hafez, H.M., El-Adawy, H. 2017. Occurrence of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in raw chicken and beef meat in northern Egypt and dissemination of their antibiotic resistance markers. Gut Pathogens. 9: 57. doi: 10.1186/s13099-017-0206-9.

104- Monte, D., Lincopan, N., Fedorka-Cray, P., Landgraf, M. 2019. Current insights on high priority antibiotic-resistant *Salmonella enterica* in food and foodstuffs: a review. Current Opinion in Food Science. 26: 35–46. doi: 10.1016/j.cofs.2019.03.004.

105- Mori, T., Mizuta, S., Suenaga, H., Miyazaki, K. 2008. Metagenomic screening for bleomycin resistance genes. Applied and Environmental Microbiology. 74(21): 6803-6805. doi: 10.1128/AEM.00873-08.

106- Narváez-Bravo, C., Rodas-González, A., Fuenmayor, Y., Flores-Rondon, C., Carruyo, G., Moreno, M., Perozo-Mena, A., Hoet, A.E. 2013. *Salmonella* on feces, hides and carcasses in beef slaughter facilities in Venezuela. International Journal of Food Microbiology. 166(2): 226-30. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.009.

107- Nayarit-Ballesteros, N., Rubio-Lozano, M., Delgado-Suarez, E., Méndez-Medina, D., Braña-Varela, D., Rodas- Suarez, O. 2016. Perfil de resistencia a antibióticos de serotipos de *Salmonella* spp aislados de carne de res molida en la Ciudad de México. Salud Pública de México. 58(3): 371-377. doi: 10.21149/spm.v58i3.7897.

108- Ngogo, F.A., Joachim, A., Abade, A.M. Rumisha, S., Mizinduko, M., Majigo, M. 2020. Factors associated with *Salmonella* infection in patients with gastrointestinal complaints seeking health care at Regional Hospital in southern highland of Tanzania. BMC Infectious Diseases. 20: 135. doi: 10.1186/s12879-020-4849-7.

- 109-** Nguyen, F., Starosta, A.L., Arenz, S., Sohmen, D., Dönhöfer, A., Wilson, D.N. 2014. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Journal of Biological Chemistry*. 395(5): 559-75. doi: 10.1515/hsz-2013-0292.
- 110-** Nhung, N.T., Van, N.T.B., Cuong, N.V., Duong, T.T.Q., Nhat, T.T., Hang, T.T.T., Nhi, N.T.H., Kiet, B.T., Hien, V.B., Ngoc, P.T., Campbell, J., Thwaites, G., Carrique-Mas, J. 2018. Antimicrobial residues and resistance against critically important antimicrobials in non-typhoidal *Salmonella* from meat sold at wet markets and supermarkets in Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*. 266: 301-309. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.015.
- 111-** Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014. 2014. Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
- 112-** Norman, A., Hansen, L.H., Sorensen, S.J. 2009. Conjugative plasmids: vessels of the communal gene pool. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 364(1527): 2275-2289. doi: 10.1098/rstb.2009.0037.
- 113-** Nüesch-Inderbilen, M., Stephan, R. 2016. Epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in the human-livestock environment. *Current Clinical Microbiology Reports*. 3(1): 1-9. doi: 10.1007/s40588-016-0027-5.
- 114-** Oliynyk, M., Samborsky, M., Lester, J.B., Mironenko, T., Scott, N., Dickens, S., Haydock, S.F., Leadlay, P.F. 2007. Complete genome sequence of the erythromycin-producing bacterium *Saccharopolyspora erythraea* NRRL23338. *Nature Biotechnology*. 25(4): 447-453. doi: 10.1038/nbt1297.
- 115-** OMS (Organización Mundial de la Salud). 2015. Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) en la Región de las Américas de la OMS. Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentarias: estimaciones de la OMS. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/327649?show=full>
- 116-** OMS (Organización Mundial de la Salud). 2017a. Global priority list of antibiotic resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Disponible en: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority->

[list-antibiotic-resistantbacteria/en/http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/amro_es.pdf?ua=1](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/amro_es.pdf?ua=1)

117- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2017b. Critically important antimicrobials for human medicine. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255027/1/9789241512220-eng.pdf?ua=1>

118- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2018. Critically important antimicrobials for human medicine. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515528>

119- Onohuean, H., Igere, B.E. 2022. Occurrence, antibiotic susceptibility and genes encoding antibacterial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* from milk and meat sold in markets of Bushenyi district, Uganda. *Microbiology Insights*. 15: 11786361221088992. doi: 10.1177/11786361221088992.

120- Palós-Gutiérrez, T., Rubio-Lozano, M., Delgado-Suárez, E., Rosi-Guzmán, N., Soberanis-Ramos, O., Hernández-Pérez, C., Méndez-Medina, D. 2020. Linfonodos y carne molida de res como reservorios de *Salmonella* spp. de importancia en salud pública. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 11(3): 795-810. doi: 10.22319/rmcp.v11i3.5516.

121- Parra, M., Durango, J., & Mattar, S. 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Revista MVZ Córdoba*. 7(2): 13-22. doi: 10.21897/rmvz.521.

122- Partridge, S.R., Kwong, S.M., Firth, N., Jensen, S.O. 2018. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 31(4): e00088-17. doi: 10.1128/CMR.00088-17.

123- Pereira-Fernandes, F., Voloski, F.L.S., Ramires, T., Haubert, L., Reta, G.G., Mondadori, R.G., Silva, W.P.D., Conceição, R.C.D.S.D., Duval, E.H. 2017. Virulence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* in the beef jerky production line. *FEMS Microbiology Letters*. 364: 9. doi: 10.1093/femsle/fnx083.

124- Piddock, L.J. 2006. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*. 19(2): 382-402. Doi: 10.1128/CMR.19.2.382-402.2006.

- 125-** Pławińska-Czarnak, J., Wódz, K., Kizerwetter-Świda, M., Bogdan, J., Kwieciński, P., Nowak, T., Strzałkowska, Z., Anusz, K. 2022. Multi-drug resistance to *Salmonella* spp. when isolated from raw meat products. *Antibiotics* (Basel). 11(7): 876. doi: 10.3390/antibiotics11070876.
- 126-** Poirel, L., Rodriguez-Martinez, J.M., Mammeri, H., Liard, A., Nordmann, P. 2005. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49(8): 3523-3525. doi: 10.1128/AAC.49.8.3523-3525.2005.
- 127-** Pond, A., Miller, M., Echeverry, A., Huerta, N., Calle, A., Rubio-Lozano, M., Chavez, A., Brashears, T., Brashears, M. 2016. *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 prevalence and generic *E. coli* and coliform quantitative baseline in raw pork and beef in retail channels in Mexico. *Food Protection Trends*. 36(1): 8–17.
- 128-** Poole, K. 2012. Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67(9): 2069-2089. doi: 10.1093/jac/dks196.
- 129-** Poppe, C., Smart, N., Khakhrina, R., Johnson, W., Spika, J., Prescott, J. 1998. *Salmonella* Typhimurium DT104: A virulent and drug-resistant pathogen. *The Canadian Journal of Veterinary*. 39(9): 559-565. PMID: 9752592.
- 130-** Quesada, A., Porrero, M.C., Tellez, S., Palomo, G., Garcia, M., Dominguez, L. 2015. Polymorphism of genes encoding PmrAB in colistin-resistant strains of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolated from poultry and swine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 70(1): 71-74. doi: 10.1093/jac/dku320.
- 131-** Quesada, A., Reginatto, G.A., Ruiz-Español, A., Colantonio, L.D., Burrone, M.S. 2016. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 33(1): 32-44. doi:10.17843/rpmesp.2016.331.1899
- 132-** Raffatellu, M., Chessa, D., Wilson, R., Tükel, Ç., Akçelik, M., Bäumler, A. 2006. Capsule mediated immune evasion: A new hypothesis explaining aspects of typhoid fever pathogenesis. *Infection and Immunity*. 74(1): 19-27. doi: 10.1128/IAI.74.1.19-27.2006.

- 133-** Rajaei, M., Moosavy, M.H., Gharajalar, S.N., Khatibi, S. 2021. Antibiotic resistance in the pathogenic foodborne bacteria isolated from raw kebab and hamburger: phenotypic and genotypic study. *BMC Microbiology*. 21: 272. doi: 10.1186/s12866-021-02326-8.
- 134-** Ramón, P., Hatim, S., Galas, M. 2018. Enfoque de una salud en las acciones para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos desde una óptica latinoamericana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 35(1): 103-109. doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.3605.
- 135-** Roberts, M.C. 2008. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*. 282(2): 147-59. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01145.x.
- 136-** Roe, M., Pillai, S. 2003. Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. *Poultry Science*. 82: 622–626. doi: 10.1093/ps/82.4.622.
- 137-** Rolf, S., Leekitcharoenphon, k., Aarestrup, F., Lund, O. 2014. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms. *PLoS ONE*. 9(8): e104984. doi: 10.1371/journal.pone.0104984.
- 138-** Sáenz, Y., Briñas, L., Domínguez, E., Ruiz, J., Zarazaga, M., Vila, J., Torres, C. 2004. Mechanisms of resistance in multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains of human, animal, and food origins. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 48(10): 3996-4001. doi: 10.1128/AAC.48.10.3996-4001.2004.
- 139-** Schmidt, J.W., Agga, G.E., Bosilevac, J.M., Brichta-Harhay, D.M., Shackelford, S.D., Wang, R., Wheeler, T.L., Arthur, T.M. 2015. Occurrence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* in the beef cattle production and processing continuum. *Applied and Environmental Microbiology*. 81: 713–725. doi: 10.1128/AEM.03079-14.
- 140-** Scholz, P., Haring, V., Wittmann-Liebold, B., Ashman, K., Bagdasarian, M., Scherzinger, E. 1989. Complete nucleotide sequence and gene organization of the broad-host-range plasmid RSF1010. *Gene*. 75(2): 271-288. doi: 10.1016/0378-1119(89)90273-4.

- 141-** SENASICA . 2022. Productos químico-farmacéuticos vigentes 2022. Recuperado de: <https://datos.gob.mx/busca/dataset/productos-quimicos-farmaceuticos-vigentes>. Consultado el 19 de octubre de 2022.
- 142-** Sharma, S., Dai, T., Kharkwal, B., Huang, G., Huang, Y., Bil, L. De Arce, V., Tegos, G.P., Hamblin, M.R. 2011. Drug discovery of antimicrobial photosensitizers using animal models. *Current Pharmaceutical Design*. 17(13): 1303-1319. doi: 10.2174/138161211795703735.
- 143-** Shen, B., Du, L., Sanchez, C., Edwards, D.J., Chen, M., Murrell, J.M. 2002. Cloning and characterization of the bleomycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces verticillus* ATCC15003. *Journal of Natural Products*. 65(3): 422-431. doi: 10.1021/np010550q.
- 144-** Shi, H., Schmidt, B., Liu, W., Müller-Wittig, W. 2010. Quality-score guided error correction for short-read sequencing data using CUDA. *Procedia Computer Science*. 1(1): 1129-1138. doi: 10.1016/j.procs.2010.04.125.
- 145-** Smith, A.B., Renter, D.G., Cernicchiaro, N., Shi, X., Nagaraja, T.G. 2016. Prevalence and quinolone susceptibilities of *Salmonella* isolated from the feces of preharvest cattle within feedlots that used a fluoroquinolone to treat bovine respiratory disease. *Foodborne Pathogens and Disease*. 13(6): 303-308. doi: 10.1089/fpd.2015.2081.
- 146-** Sofos, J. 2018. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*. 78: 3–13. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.07.027.
- 147-** Song, Q., Xu, Z., Gao, H., Zhang, D. 2018. Overview of the development of quinolone resistance in *Salmonella* species in China, 2005-2016. *Infection and Drug Resistance*. 11: 267-274. doi: 10.2147/IDR.S157460.
- 148-** Stothard, P., Grant, J.R., Van Domselaar, G. 2019. Visualizing and comparing circular genomes using the CGView family of tools. *Briefings in Bioinformatics*. 20(4): 1576-1582. doi: 10.1093/bib/bbx081.
- 149-** Strahilevitz, J., Jacoby, G.A., Hooper, D.C., Robicsek, A. 2009. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clinical Microbiology Reviews*. 22(4): 664-689. doi: 10.1128/CMR.00016-09.

- 150-** Tang, K.L., Caffrey, N.P., Nóbrega, D.B., Cork, S.C., Ronksley, P.E., Barkema, H.W., Polachek, A., Ganshirn, H., Sharma, N., Kellner, J., Ghali, W. 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet Health*. 1(8): e316-e327. doi: 10.1016/S2542-5196(17)30141-9.
- 151-** Terentjeva, M., Avsejenko, J., Streikiša, M., Utināne, A., Kovaļenko, K., Bērziņš, A. 2017. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in meat and meat products in Latvia. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 24(2): 317-321. doi: 10.5604/12321966.1235180.
- 152-** Thung, T.Y., Radu, S., Mahyudin, N.A., Rukayadi, Y., Zakaria, Z., Mazlan, N., Tan, B.H., Lee, E., Yeoh, S.L., Chin, Y.Z., Tan, C.W., Kuan, C.H., Basri, D.F., Mohamed, R. 2018. Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serovars from retail beef in Selangor, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*. 11(8) :2697. doi: 10.3389/fmicb.2017.02697.
- 153-** Tindall, B., Grimont, P., Garrity, G., Euze, J. 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 521–524. doi: 10.1099/ijs.0.63580-0
- 154-** Van, T.T., Moutafis, G., Istivan, T., Tran, L.T., Coloe, P.J. 2007. Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(21): 6885-90. doi: 10.1128/AEM.00972-07.
- 155-** Vikram, A., Rovira, P., Agga, G., Arthur, T., Bosilevac, J., Wheeler, T., Morley, P., Belk, K., Schmidt, J. 2013. Impact of “raised without antibiotics” beef cattle production practices on occurrences of antimicrobial resistance. *Applied and Environmental Microbiology*. 83(22): e01682-17. doi: 10.1128/AEM.01682-17.
- 156-** Villalpando-Guzmán, S., Vázquez-Quiñones, C.R., Natividad-Bonifacio, I., Curiel-Quesada, E., Quiñones-Ramírez, E.I., Vázquez-Salinas, C. 2017. Frecuencia, susceptibilidad antimicrobiana y patrón de adherencia de *Salmonella enterica* aislada de carne de pollo, res y cerdo de la Ciudad de México. *Revista*

Chilena de Infectología. 34(5): 458-466. doi: 10.4067/S0716-10182017000500458.

157- von Wintersdorff, C.J., Penders, J., van Niekerk, J.M., Mills, N.D., Majumder, S., van Alphen, L.B., Savelkoul, P.H., Wolffs, P.F. 2016. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in Microbiology*. 7:173. doi: 10.3389/fmicb.2016.00173.

158- Wang, W., Chen, J., Shao, X., Huang, P., Zha, J., Ye, Y. 2021. Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from retail meats in Anhui, China. *Food Science & Nutrition*. 9(9): 4701-4710. doi: 10.1002/fsn3.2266.

159- Wattam, A. R., Abraham, D., Dalay, O., Disz, T., Driscoll, T., Gabbard, J., Gillespie, J., Gough, R., Hix, D., Kenyon, R., Machi, D., Mao, C., Nordberg, E., Olson, R., Overbeek, R., Pusch, G., Shukla, M., Schulman, J., Stevens, R., Sullivan, D., Vonstein, V., Warren, A., Will, R., Wilson, M., Yoo, H., Zhang, C., Zhang, Y., Sobral, B. 2014. PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic Acids Research*. 42: D581–D591. doi: 10.1093/nar/gkt1099.

160- Webb, H.E., Brichta-Harhay, D.M., Brashears, M.M., Nightingale, K.K., Arthur, T.M., Bosilevac, J.M., Kalchayanand, N., Schmidt, J.W., Wang, R., Granier, S.A., Brown, T.R., Edrington, T.S., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., Loneragan, G.H. 2017. *Salmonella* in peripheral lymph nodes of healthy cattle at slaughter. *Frontiers in Microbiology*. 8: 2214. doi: 10.3389/fmicb.2017.02214.

161- Webber, M.A., Bailey, A.M., Blair, J.M.A., Morgan, E., Stevens, M.P., Hinton, J.C.D., Ivens A., Wain J., Piddock L.J. 2009. The global consequence of disruption of the AcrAB-TolC efflux pump in *Salmonella enterica* includes reduced expression of SPI-1 and other attributes required to infect the host. *Journal of Bacteriology*. 191(13): 4276-4285. doi: 10.1128/JB.00363-09.

162- Weiler, N., Orrego, M., Álvarez, M., Huber, C., Ortiz, F., Núñez, L. Piris, L., Pérez, J. 2017. Primeros resultados de la vigilancia integrada de la resistencia antimicrobiana de patógenos transmitidos por alimentos, *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp. en tres poblaciones distintas. Paraguay. 2011-2012. Memorias

del Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud. 15(2): 64-72. doi: 10.18004/Mem.iics/1812-9528/2017.015(02)64-072.

163- Wray, C., Wray, A. 2000. *Salmonella* en los animales domésticos. CAB International Wallingford. Oxon, Reino Unido. 230pp.

164- Wu, V., Fung, D., Kang, H., Thompson, L. 2001. Evaluation of thin agar layer method for recovery of acid-injured foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*. 64(7): 1067–1071. doi: 10.4315/0362-028x-64.7.1067.

165- Yin, M., Yang, B., Wu, Y., Wang, L., Wu, H., Zhang, T., Tuohetaribayi, G. 2016. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* serovar in retail meats in marketplace in Uighur, Xinjiang, China. *Food Control*. 64: 165-172. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.12.029.

166- Yin, X., M'ikanatha, N., Nyirabahizi, E., McDermott, P., Tate, H. 2021. Antimicrobial resistance in non-Typhoidal *Salmonella* from retail poultry meat by antibiotic usage-related production claims – United States, 2008–2017. *International Journal of Food Microbiology*. 342: 109044. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109044.

167- Yoshida, C.E., Kruczkiewicz, P., Laing, C.R., Lingohr, E.J., Gannon, V.P.J., Nash, J.H.E., Taboada, E.N. 2016. The *Salmonella* in silico typing resource (SISTR): an open web-accessible tool for rapidly typing and subtyping draft *Salmonella* genome assemblies. *PLoS One*. 11(1): e0147101. doi: 10.1371/journal.pone.0147101.

168- Zankari, E., Allesoe, R., Joensen, K.G., Cavaco, L.M., Lund, O., Aarestrup, F.M. 2017. PointFinder: a novel web tool for WGS-based detection of antimicrobial resistance associated with chromosomal point mutations in bacterial pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 72(10): 2764-2768. doi: 10.1093/jac/dkx217.

169- Zhang, J., Jin, H., Hu, J., Yuan, Z., Shi, W., Ran, L., Zhao, S., Yang, X., Meng, J., Xu, X. 2014. Serovars and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* from human patients in Shanghai, China, 2006-2010. *Epidemiology & Infection*. 142(4): 826-832. doi: 10.1017/S0950268813001659.

ANEXOS

Anexo 1. Halos de inhibición de la prueba de susceptibilidad a antibióticos por el método de difusión por disco para las cepas de *Salmonella* bajo estudio.

ID Cepa	Betalactámicos					Fluoroquinolonas	Macrólidos	Tetraciclinas	Fenicoles	Aminoglucósidos			Inhibidores de la vía del folato
	AMP (10µ)	AMC (20/10µ)	CRO (30µ)	FEP (30µ)	MEM (15µ)	CIP (5µ)	AZM (15µ)	TET (30µ)	CHL (30µ)	AMK (30µ)	STR (10µ)	SXT (1.25/23.75µ)	
GB1-1	23	30	33	34	37	28	24	0	8	19	9	0	
GB1-2	24	27	30	30	32	29	15	0	0	22	12	0	
GB16-1	27	28	34	36	33	37	19	27	26	29	17	27	
GB16-2	25	25	30	31	29	32	15	24	24	20	15	24	
GB16-3	25	25	29	32	30	32	15	23	23	19	14	25	
GB16-4	25	26	30	32	29	33	16	23	23	21	15	26	
GB16-5	24	25	29	31	30	31	14	22	23	21	14	25	
GB19-1	23	25	31	31	29	31	15	20	24	20	12	0	
GB19-2	23	29	30	32	30	31	13	24	24	20	12	0	
GB19-3	19	21	27	30	23	33	25	25	26	21	14	21	
GB24-1	21	23	31	32	24	26	22	0	0	22	12	0	
GB24-2	22	23	30	33	24	25	24	0	0	24	14	0	
GB26-1	22	21	30	32	24	33	15	23	24	22	14	27	
GB26-2	23	20	29	33	23	33	11	24	22	22	13	21	
GB27-1	0	0	27	31	23	29	7	7	0	21	12	0	
GB27-2	0	8	30	32	25	29	8	0	0	22	14	0	
GB27-3	0	7	30	33	25	30	7	0	0	23	12	0	
GB27-4	0	0	31	32	25	28	7	7	0	21	12	0	
GB45	25	25	31	31	30	22	21	25	25	22	13	26	
GB48-1	25	25	29	33	30	36	24	25	25	27	14	25	
GB48-2	25	26	32	35	32	33	25	25	25	23	15	27	
GB49	25	27	32	33	32	30	20	0	0	21	12	0	
GB53-1	0	20	30	32	31	32	20	8	0	22	0	18	
GB53-2	26	25	30	34	30	27	22	25	27	22	15	27	
GB53-3	25	27	30	32	30	30	17	25	29	21	17	28	
GB54-1	0	25	30	33	31	31	9	0	0	22	0	0	
GB55-1	24	27	30	32	30	33	20	24	24	21	15	27	
GB55-2	25	26	32	33	32	36	22	25	27	22	14	27	
GB56-1	24	26	32	35	32	27	9	0	0	22	16	0	
GB56-2	25	28	32	35	29	28	8	8	0	23	0	0	
GB56-3	25	27	34	35	33	30	20	8	9	22	17	0	
GB28-1	21	20	29	29	23	27	21	24	25	21	13	25	
GB29-2	22	22	29	31	24	33	15	25	27	20	15	29	
GB29-3	0	0	19	27	24	34	17	7	0	23	0	22	

GB29-4	22	21	30	30	24	24	19	25	27	21	15	25
GB30-1	0	0	27	29	24	34	15	7	0	21	0	0
GB30-4	0	10	28	27	27	35	16	7	0	20	0	26
GB30-5	0	10	29	31	23	35	16	7	0	21	0	23
GB30-6	0	7	31	30	24	29	7	7	0	21	11	0
GB30-7	0	8	29	29	23	32	15	7	0	20	0	23
GB31-1	23	22	29	30	25	25	7	7	0	21	12	0
GB31-2	22	21	29	29	24	33	16	25	26	21	15	27
GB31-3	0	7	33	33	25	30	7	7	0	22	0	0
GB31-4	24	26	29	30	29	31	22	24	26	21	15	26
GB31-5	25	27	29	32	31	32	21	25	25	22	17	27
GB31-6	20	21	29	30	29	33	21	24	25	20	14	26
GB31-7	22	20	29	30	24	32	22	24	24	21	13	27
GB32-1	0	24	29	30	30	29	0	0	0	20	7	0
GB32-3	0	19	29	32	31	26	23	5	0	22	0	0
GB33-1	0	29	31	32	30	22	22	7	0	20	0	0
GB34-1	27	26	30	32	31	36	22	25	27	21	14	27
GB34-2	26	29	30	33	29	38	23	26	29	21	14	28
GB34-3	21	21	29	29	24	31	22	24	29	20	14	26
GB35-1	24	24	29	33	31	32	24	24	19	21	13	25
GB35-2	24	30	30	31	30	36	25	24	27	21	14	27
GB35-4	24	26	29	31	28	33	22	24	27	20	15	24
GB36	24	27	30	32	31	34	23	23	26	20	15	24
GB37-1	25	26	30	30	28	32	21	23	24	21	14	26
GB37-2	25	26	29	32	29	34	24	24	27	20	13	25
GB38-1	26	25	30	32	30	34	22	23	25	21	16	26
GB38-2	26	26	27	29	27	25	21	24	26	20	13	27
GB38-3	25	27	26	30	29	33	20	24	27	20	13	25
GB38-4	26	27	30	33	30	38	23	25	27	22	14	26
GB39-1	9	24	32	33	31	32	24	0	0	21	0	0
GB39-2	8	22	31	33	31	30	24	12	0	22	0	0
GB39-3	8	26	31	34	31	32	24	0	0	21	0	0
GB39-4	7	26	30	32	30	33	23	0	0	21	0	0
GB40-1	25	27	30	33	31	35	22	24	25	21	14	27
GB40-2	25	27	31	32	31	37	24	25	26	22	15	27
GB40-3	21	24	30	31	24	38	23	23	25	21	15	28
GB41-1	27	28	33	35	30	29	21	11	26	23	0	22
GB41-2	25	28	32	33	30	31	21	0	26	22	0	22
GB41-3	25	26	30	30	30	29	15	0	25	20	0	21
GB4-1	27	27	31	34	33	27	22	24	28	24	16	27
GB4-2	25	28	30	32	33	28	18	25	24	24	15	29
GB5-2	22	27	32	36	33	29	23	25	26	24	16	27
GB6-2	26	26	32	33	33	28	23	25	25	23	16	27
GB6-3	27	27	31	36	34	30	22	19	27	23	15	28
GB7-1	27	29	33	34	32	30	25	26	29	26	18	30
GB7-2	27	28	32	35	32	30	28	28	28	26	17	28
GB7-3	25	27	32	36	35	30	27	25	25	26	18	28

GB8-2	28	28	33	34	34	38	27	26	28	26	18	29
GB8-3	28	29	33	35	35	37	26	27	27	26	18	29
GB8-5	27	29	32	35	35	37	28	26	29	26	17	29
GB9-1	0	26	33	35	33	29	27	8	0	25	0	25
GB9-2	0	26	34	35	35	29	26	9	0	27	0	25
GB9-3	26	29	34	33	34	30	20	28	29	24	16	27
GB10-2	26	27	32	32	31	29	23	25	27	22	14	26
GB10-3	26	28	31	32	35	27	20	22	26	22	16	28
GB10-4	25	27	31	32	34	30	22	26	26	24	16	28
GB10-5	26	27	31	35	34	28	18	27	27	25	16	29
GB10-6	26	27	32	33	33	26	18	26	27	26	15	29
GB10-7	27	26	33	35	34	29	16	27	26	24	14	29
GB12-1	24	27	31	33	34	29	15	0	0	22	15	0
GB12-2	0	24	33	32	35	28	11	6	0	21	12	0
GB13-1	0	25	34	34	33	31	16	0	0	24	12	0
GB13-2	0	20	32	34	34	29	14	0	0	21	12	0
GB13-3	0	25	32	32	34	30	15	0	0	22	10	0
GB14-1	0	24	33	35	33	33	21	0	28	24	0	27
GB14-2	25	29	34	34	32	33	20	0	27	25	15	28
GB15-1	28	30	32	33	35	35	17	26	26	21	16	28
GB15-2	27	29	35	36	34	37	16	26	25	24	15	26
GB51	0	0	9	16	33	20	10	0	0	21	0	25
GB52-1	27	27	32	33	31	35	9	0	0	22	15	0
GB52-2	0	0	9	12	31	34	10	0	0	21	0	26
GB52-3	0	0	9	12	31	28	10	0	0	22	0	24
GB52-4	25	27	31	34	32	36	9	0	0	22	14	0
GB43-1	0	17	31	32	30	30	7	0	0	21	9	0
GB42	8	25	32	33	32	34	22	0	0	22	0	0

Anexo 2. Frecuencia absoluta y relativa de cepas resistentes por antibiótico evaluado y de cepas multirresistentes para cada serotipo encontrado.

Serotipo (n)	Betalactámicos					Fluoroquinolonas	Macrólidos	Tetraciclinas	Fenicoles	Aminoglucósidos		Inhibidores de la vía del folato	MDR
	AMP	AMC	CRO	FEP	MEM	CIP	AZM	TET	CHL	AMK	STR	SXT	
Adelaide (12)	5	3	-	-	-	-	-	5	5	-	5	-	5
Agona (3)	3	-	-	-	-	-	-	3	3	-	3	3	3
Anatum (26)	6	-	-	-	-	-	-	11	12	-	10	12	12
Bovismorbificans (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Derby (8)	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	3	-	0
Give (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Goldcoast (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Havana (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
I 4, [5], 12:i:- (3)	2	-	-	-	-	-	1	3	1	-	2	1	2
Infantis (11)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	0
London (6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Mississippi (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Muenchen (2)	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1
Newport (12)	8	6	-	-	-	-	10	12	12	-	9	11	12
Panama (4)	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2	1	1
Rissen (1)	1	1	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1
Seftenberg (6)	3	2	1	1	-	-	5	4	5	-	3	4	5
Typhimurium (1)	1	1	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	1
Frec. Absoluta	31	13	2	2	0	0	18	45	40	0	40	34	43
Frec. Relativa (%)	28.4	11.9	1.8	1.8	0.0	0.0	16.5	41.3	36.7	0.0	36.7	31.2	39.4

Anexo 3. Control de calidad del ensamble de las cepas de *Salmonella* bajo estudio.

ID Cepa	Tamaño del genoma, pb	%GC	# de contigs	N50	L50	Secuencias codificantes	MLST	Genes/Mb	Arreglo CRISPR	Repetición CRISPR	Espaciador CRISPR	rRNA	tRNA
GB1-1	4863675	52.22	53	293735	7	4938	64	984.95	1	25	24	4	57
GB1-2	4862820	52.22	56	293531	6	4923	64	987.78	1	25	24	4	56
GB16-1	4758606	52.14	41	280053	7	4763	588	999.08	2	98	96	3	52
GB16-2	4758348	52.14	45	280053	7	4776	588	996.3	2	98	96	3	55
GB16-3	4758286	52.14	43	280053	7	4764	588	998.8	2	98	96	3	53
GB16-4	4759897	52.14	42	280178	7	4780	588	995.79	2	98	96	3	57
GB16-5	4759048	52.14	42	280053	7	4780	588	995.62	2	98	96	3	52
GB19-1	4737204	52.21	51	214384	7	4736	48	1000.25	2	98	96	3	52
GB19-2	4736915	52.21	57	210585	8	4738	48	999.77	2	98	96	3	56
GB19-3	4631328	52.21	46	214384	7	4620	48	1002.45	1	19	17	3	54
GB24-1	4735314	52.21	52	405123	4	4770	64	992.73	1	19	18	3	60
GB24-2	4828447	52.15	46	404859	4	4887	64	988.02	1	19	18	4	56
GB26-1	4582818	52.27	51	201777	6	4530	32	1011.66	2	51	49	2	54
GB26-2	4585681	52.27	47	201843	6	4536	32	1010.95	2	51	49	4	56
GB27-1	4907409	52.09	57	276077	6	5016	132	978.35	2	50	48	2	56
GB27-2	4908332	52.09	53	279135	6	5009	132	979.9	2	50	48	3	60
GB27-3	4908030	52.09	58	261156	7	5020	132	977.7	2	50	48	3	61
GB27-4	4908671	52.09	54	279135	6	5014	132	978.99	2	50	48	3	61
GB45	4743450	52.15	31	450693	3	4753	64	997.99	1	21	20	4	56
GB48-1	4660040	52.16	26	452558	3	4649	64	1002.37	1	21	20	3	57
GB48-2	4619333	52.2	29	404900	3	4593	64	1005.73	1	21	20	5	61
GB49	4803441	52.07	50	386738	6	4875	64	985.32	1	19	18	3	55
GB53-1	4816314	51.96	56	210641	8	4843	48	994.49	1	18	17	5	58
GB53-2	4582927	52.34	43	295616	5	4571	440	1002.61	2	20	18	5	53
GB53-3	4820446	52.07	191	404416	5	4890	2194	985.78	3	58	55	4	54
GB54-1	5041057	51.98	92	256658	8	5140	34	980.75	3	57	54	4	61
GB55-1	4667926	52.24	46	201836	7	4656	32	1002.56	2	56	54	2	54
GB55-2	4669465	52.24	43	202371	8	4652	32	1003.75	2	56	54	2	56
GB56-1	4812831	52.21	51	380533	5	4850	132	992.34	2	48	46	3	56
GB56-2	4812692	52.21	51	401589	4	4853	132	991.69	2	48	46	3	53
GB56-3	4812459	52.21	51	380533	5	4860	132	990.22	2	48	46	3	54
GB28-1	4653826	52.18	41	242115	8	4641	155	1002.76	2	36	34	4	51
GB29-2	4715280	52.19	40	218538	8	4652	150	1013.6	2	56	54	3	57
GB29-3	4904370	52.17	54	330473	5	4997	45	981.46	2	46	44	3	60
GB29-4	4625889	52.22	46	224744	8	4600	155	1005.63	2	36	34	4	50
GB30-1	5120412	51.8	55	326894	6	5236	469	977.92	3	55	52	4	56
GB30-4	4606408	52.37	47	295799	5	4571	440	1007.75	2	20	18	4	60
GB30-5	4610397	52.38	43	295799	5	4578	440	1007.08	2	20	18	5	56
GB30-6	4821074	52.08	52	268669	6	4876	14	988.74	3	103	100	4	63
GB30-7	4605428	52.37	47	295799	5	4578	440	1005.99	2	20	18	4	56
GB31-1	4838770	52.21	53	380533	5	4895	132	988.51	2	50	48	3	53
GB31-2	4663744	52.21	41	290066	6	4642	358	1004.68	2	64	62	3	61

GB31-3	4836611	52.21	49	295370	5	4891	132	988.88	2	50	48	3	56
GB31-4	4663174	52.21	36	320405	5	4645	358	1003.91	2	64	62	3	55
GB31-5	4663409	52.21	35	340734	5	4642	358	1004.61	2	64	62	3	54
GB31-6	4662731	52.21	38	246339	6	4640	358	1004.9	2	64	62	3	56
GB31-7	4662316	52.21	35	320405	5	4643	358	1004.16	2	64	62	3	53
GB32-1	4819184	52.08	52	267792	6	4870	14	989.57	3	101	98	6	55
GB32-3	4937531	51.75	45	400610	6	4993	112	988.89	1	8	7	4	57
GB33-1	5007002	51.87	44	404846	5	5097	64	982.34	1	27	26	4	57
GB34-1	4655536	52.18	60	189645	8	4663	155	998.4	2	36	34	4	52
GB34-2	4650824	52.18	43	237134	7	4638	155	1002.76	2	36	34	4	51
GB34-3	4519937	52.18	35	375998	4	4447	2589	1016.4	2	35	33	3	56
GB35-1	4622618	52.15	32	404870	3	4605	64	1003.83	1	9	8	4	55
GB35-2	4622236	52.15	32	450784	3	4599	64	1005.05	1	9	8	4	54
GB35-4	4716041	52.02	35	309949	5	4704	112	1002.56	2	35	33	3	48
GB36	4519221	52.18	34	375880	4	4435	2589	1018.99	2	35	33	3	52
GB37-1	4616355	52.18	40	215482	6	4562	32	1011.91	2	56	54	3	62
GB37-2	4623412	52.15	34	388760	5	4595	64	1006.18	1	9	8	4	57
GB38-1	4622520	52.15	33	396863	4	4597	64	1005.55	1	9	8	4	56
GB38-2	4622109	52.15	30	404870	4	4608	64	1003.06	1	9	8	4	54
GB38-3	4622711	52.15	30	450227	4	4599	64	1005.16	1	9	8	4	54
GB38-4	4622409	52.15	32	396863	4	4606	64	1003.56	1	9	8	4	53
GB39-1	4997729	51.85	75	169359	9	5113	64	977.46	1	25	24	4	60
GB39-2	4996918	51.85	76	194188	9	5119	64	976.15	1	25	24	4	56
GB39-3	4997765	51.85	79	194253	9	5124	64	975.36	1	25	24	5	60
GB39-4	4998159	51.84	74	200422	8	5110	64	978.11	1	25	24	4	61
GB40-1	4809136	52	73	215907	6	4860	40	989.53	2	32	30	4	53
GB40-2	4808467	52	66	307066	6	4862	40	988.99	2	32	30	4	59
GB40-3	4809058	52	70	307131	7	4873	40	986.88	2	32	30	4	54
GB41-1	4958998	51.96	60	349610	5	5057	40	980.62	3	47	44	5	60
GB41-2	4959279	51.95	58	349610	5	5048	40	982.42	3	47	44	5	61
GB41-3	4959374	51.96	61	349504	5	5066	40	978.95	3	47	44	5	58
GB4-1	4601693	52.25	43	224744	8	4563	155	1008.48	2	36	34	4	52
GB4-2	4594305	52.29	46	203767	6	4553	32	1009.07	2	56	54	3	54
GB5-2	4759833	52.17	43	340681	6	4798	64	992.05	1	27	26	3	61
GB6-2	4784073	52.17	44	328652	6	4833	64	989.88	1	27	26	4	63
GB6-3	4781400	52.17	40	368917	6	4836	64	988.71	1	27	26	3	56
GB7-1	4542300	52.33	44	295800	5	4508	440	1007.61	2	20	18	4	55
GB7-2	4545614	52.34	43	295800	5	4516	440	1006.56	2	20	18	5	56
GB7-3	4762975	52.17	42	397422	6	4810	64	990.22	1	27	26	4	58
GB8-2	4556369	52.33	40	295790	5	4529	440	1006.04	2	20	18	5	52
GB8-3	4553113	52.32	41	295790	5	4518	440	1007.77	2	20	18	4	52
GB8-5	4553033	52.32	41	295790	5	4524	440	1006.42	2	20	18	4	50
GB9-1	4615073	52.37	49	295799	5	4589	440	1005.68	2	20	18	4	51
GB9-2	4617299	52.37	50	295799	5	4590	440	1005.95	2	20	18	5	54
GB9-3	4607807	52.25	50	224744	7	4574	155	1007.39	2	36	34	4	52
GB10-2	4545822	52.34	42	295800	5	4509	440	1008.16	2	20	18	5	51
GB10-3	4593598	52.29	51	203767	7	4544	32	1010.92	2	56	54	3	54

GB10-4	4594465	52.29	49	203832	7	4559	32	1007.78	2	56	54	3	59
GB10-5	4594167	52.29	50	203767	6	4554	32	1008.82	2	58	56	2	58
GB10-6	4594590	52.29	47	203754	6	4549	32	1010.02	2	56	54	3	50
GB10-7	4593674	52.29	50	201942	8	4546	32	1010.49	2	56	54	3	60
GB12-1	4775354	52.26	51	293735	7	4819	64	990.94	1	25	24	4	58
GB12-2	4776550	52.22	52	380533	5	4797	132	995.74	2	48	46	3	54
GB13-1	4866677	52.01	56	233408	7	4951	13	982.87	3	39	36	5	55
GB13-2	4858491	52.01	44	262503	6	4942	13	983.1	3	39	36	5	55
GB13-3	4858534	52.02	47	215521	7	4939	13	983.71	3	39	36	5	56
GB14-1	5033274	52.04	98	224804	8	5133	34	980.57	3	59	56	3	62
GB14-2	5025631	52.03	94	267148	7	5120	34	981.57	3	59	56	4	58
GB15-1	4801105	52.02	83	244372	6	4881	40	983.63	3	43	40	5	54
GB15-2	4800977	52.02	82	316438	5	4873	40	985.22	2	32	30	4	52
GB51	5140584	51.86	72	223918	7	5287	213	972.31	3	57	54	3	58
GB52-1	4867300	52.07	55	236993	7	4932	14	986.88	3	101	98	5	52
GB52-2	4867866	52.07	54	267792	6	4928	14	987.8	3	101	98	5	55
GB52-3	4867580	52.06	53	268546	6	4936	14	986.14	3	101	98	5	56
GB52-4	4867568	52.07	55	267792	6	4925	14	988.34	3	101	98	4	53
GB43-1	4871705	52.11	50	380533	5	4958	132	982.59	2	50	48	2	58
GB42	4998566	51.85	77	169359	10	5123	64	975.71	1	25	24	4	59

Anexo 4. Identificación y datos de subida al NCBI de las cepas de *Salmonella* bajo estudio.

ID Cepa	Entidad federativa	NCBI ID	SRR	Serotipo
MPSPGB30-4	Toluca	SAMN29633036	SRR20081773	Adelaide
MPSPGB30-5	Toluca	SAMN29633037	SRR20081772	Adelaide
MPSPGB30-7	Toluca	SAMN29633039	SRR20081770	Adelaide
MPSPGB9-1	Cuernavaca	SAMN27723585	SRR18856408	Adelaide
MPSPGB9-2	Cuernavaca	SAMN27723586	SRR18856406	Adelaide
MPSPGB10-2	Cuernavaca	SAMN27723564	SRR18856391	Adelaide
MPSPGB53-2	Pachuca	SAMN29633085	SRR20081719	Adelaide
MPSPGB7-1	Cuernavaca	SAMN27723583	SRR18856410	Adelaide
MPSPGB7-2	Cuernavaca	SAMN27723582	SRR18856411	Adelaide
MPSPGB8-2	Cuernavaca	SAMN27723568	SRR18856426	Adelaide
MPSPGB8-3	Cuernavaca	SAMN27723570	SRR18856424	Adelaide
MPSPGB8-5	Cuernavaca	SAMN27723584	SRR18856409	Adelaide
MPSPGB13-1	Puebla	SAMN27723563	SRR18856392	Agona
MPSPGB13-2	Puebla	SAMN27723566	SRR18856428	Agona
MPSPGB13-3	Puebla	SAMN27723572	SRR18856422	Agona
MPSPGB39-2	Toluca	SAMN29633064	SRR20081742	Anatum
MPSPGB39-4	Toluca	SAMN29633066	SRR20081740	Anatum
MPSPGB33-1	Toluca	SAMN29633049	SRR20081759	Anatum
MPSPGB39-1	Toluca	SAMN29633063	SRR20081743	Anatum
MPSPGB39-3	Toluca	SAMN29633065	SRR20081741	Anatum
MPSPGB42	Tlaxcala	SAMN29633073	SRR20081732	Anatum
MPSPGB35-1	Toluca	SAMN29633053	SRR20081754	Anatum
MPSPGB35-2	Toluca	SAMN29633054	SRR20081753	Anatum
MPSPGB37-2	Toluca	SAMN29633058	SRR20081749	Anatum
MPSPGB38-1	Toluca	SAMN29633059	SRR20081748	Anatum
MPSPGB38-2	Toluca	SAMN29633060	SRR20081747	Anatum
MPSPGB38-3	Toluca	SAMN29633061	SRR20081746	Anatum
MPSPGB38-4	Toluca	SAMN29633062	SRR20081744	Anatum
MPSPGB45	Chilpancingo	SAMN29633075	SRR20081730	Anatum
MPSPGB48-1	Chilpancingo	SAMN29633076	SRR20081729	Anatum
MPSPGB48-2	Chilpancingo	SAMN29633077	SRR20081728	Anatum
MPSPGB5-2	Cuernavaca	SAMN27723569	SRR18856425	Anatum
MPSPGB6-2	Cuernavaca	SAMN27723579	SRR18856414	Anatum
MPSPGB6-3	Cuernavaca	SAMN27723580	SRR18856413	Anatum
MPSPGB7-3	Cuernavaca	SAMN27723558	SRR18856418	Anatum
MPSPGB24-1	Ciudad de México	SAMN29633025	SRR20081756	Anatum
MPSPGB1-1	Ciudad de México	SAMN27723560	SRR18856396	Anatum
MPSPGB1-2	Ciudad de México	SAMN27723561	SRR18856394	Anatum
MPSPGB49	Chilpancingo	SAMN29633078	SRR20081727	Anatum
MPSPGB24-2	Ciudad de México	SAMN29633027	SRR20081734	Anatum
MPSPGB12-1	Puebla	SAMN27723590	SRR18856402	Anatum
MPSPGB29-2	Toluca	SAMN29633032	SRR20081777	Bovismorbificans
MPSPGB15-1	Puebla	SAMN27723592	SRR18856400	Derby
MPSPGB15-2	Puebla	SAMN27723593	SRR18856399	Derby

MPSPGB40-1	Toluca	SAMN29633067	SRR20081739	Derby
MPSPGB40-2	Toluca	SAMN29633068	SRR20081738	Derby
MPSPGB40-3	Toluca	SAMN29633069	SRR20081737	Derby
MPSPGB41-1	Toluca	SAMN29633070	SRR20081736	Derby
MPSPGB41-2	Toluca	SAMN29633071	SRR20081735	Derby
MPSPGB41-3	Toluca	SAMN29633072	SRR20081733	Derby
MPSPGB34-3	Toluca	SAMN29633052	SRR20081755	Give
MPSPGB36	Toluca	SAMN29633056	SRR20081751	Give
MPSPGB31-2	Toluca	SAMN29633041	SRR20081768	Goldcoast
MPSPGB31-4	Toluca	SAMN29633043	SRR20081765	Goldcoast
MPSPGB31-5	Toluca	SAMN29633044	SRR20081764	Goldcoast
MPSPGB31-6	Toluca	SAMN29633045	SRR20081763	Goldcoast
MPSPGB31-7	Toluca	SAMN29633046	SRR20081762	Goldcoast
MPSPGB16-1	Ciudad de México	SAMN27723594	SRR18856398	Havana
MPSPGB16-2	Ciudad de México	SAMN27723556	SRR18856430	Havana
MPSPGB16-3	Ciudad de México	SAMN27723562	SRR18856393	Havana
MPSPGB16-4	Ciudad de México	SAMN27723565	SRR18856390	Havana
MPSPGB16-5	Ciudad de México	SAMN27723574	SRR18856420	Havana
MPSPGB54-1	Pachuca	SAMN29633087	SRR20081717	1, 4, [5], 12:i:-
MPSPGB14-1	Puebla	SAMN27723575	SRR18856419	1, 4, [5], 12:i:-
MPSPGB14-2	Puebla	SAMN27723591	SRR18856401	1, 4, [5], 12:i:-
MPSPGB26-2	Ciudad de México	SAMN29633031	SRR20081707	Infantis
MPSPGB10-3	Cuernavaca	SAMN27723567	SRR18856427	Infantis
MPSPGB10-4	Cuernavaca	SAMN27723573	SRR18856421	Infantis
MPSPGB10-5	Cuernavaca	SAMN27723571	SRR18856423	Infantis
MPSPGB10-6	Cuernavaca	SAMN27723588	SRR18856404	Infantis
MPSPGB10-7	Cuernavaca	SAMN27723589	SRR18856403	Infantis
MPSPGB26-1	Ciudad de México	SAMN29633030	SRR20081708	Infantis
MPSPGB37-1	Toluca	SAMN29633057	SRR20081750	Infantis
MPSPGB4-2	Cuernavaca	SAMN27723559	SRR18856407	Infantis
MPSPGB55-1	Pachuca	SAMN29633088	SRR20081716	Infantis
MPSPGB55-2	Pachuca	SAMN29633089	SRR20081715	Infantis
MPSPGB28-1	Toluca	SAMN29633029	SRR20081712	London
MPSPGB29-4	Toluca	SAMN29633034	SRR20081775	London
MPSPGB34-1	Toluca	SAMN29633050	SRR20081758	London
MPSPGB34-2	Toluca	SAMN29633051	SRR20081757	London
MPSPGB4-1	Cuernavaca	SAMN27723581	SRR18856412	London
MPSPGB9-3	Cuernavaca	SAMN27723587	SRR18856405	London
MPSPGB53-3	Pachuca	SAMN29633086	SRR20081718	Mississippi
MPSPGB32-3	Toluca	SAMN29633048	SRR20081760	Muenchen
MPSPGB35-4	Toluca	SAMN29633055	SRR20081752	Muenchen
MPSPGB27-1	Ciudad de México	SAMN29633022	SRR20081779	Newport
MPSPGB27-3	Ciudad de México	SAMN29633026	SRR20081745	Newport
MPSPGB27-4	Ciudad de México	SAMN29633028	SRR20081723	Newport
MPSPGB31-3	Toluca	SAMN29633042	SRR20081766	Newport
MPSPGB27-2	Ciudad de México	SAMN29633024	SRR20081767	Newport
MPSPGB29-3	Toluca	SAMN29633033	SRR20081776	Newport

MPSPGB12-2	Puebla	SAMN27723557	SRR18856429	Newport
MPSPGB43-1	Querétaro	SAMN29633074	SRR20081731	Newport
MPSPGB31-1	Toluca	SAMN29633040	SRR20081769	Newport
MPSPGB56-2	Pachuca	SAMN29633091	SRR20081713	Newport
MPSPGB56-1	Pachuca	SAMN29633090	SRR20081714	Newport
MPSPGB56-3	Pachuca	SAMN29633092	SRR20081711	Newport
MPSPGB53-1	Pachuca	SAMN29633084	SRR20081720	Panama
MPSPGB19-3	Ciudad de México	SAMN29633023	SRR20081778	Panama
MPSPGB19-1	Ciudad de México	SAMN27723595	SRR18856397	Panama
MPSPGB19-2	Ciudad de México	SAMN27723596	SRR18856395	Panama
MPSPGB30-1	Toluca	SAMN29633035	SRR20081774	Rissen
MPSPGB30-6	Toluca	SAMN29633038	SRR20081771	Seftenberg
MPSPGB52-2	Puebla	SAMN29633081	SRR20081724	Seftenberg
MPSPGB52-3	Puebla	SAMN29633082	SRR20081722	Seftenberg
MPSPGB32-1	Toluca	SAMN29633047	SRR20081761	Seftenberg
MPSPGB52-1	Puebla	SAMN29633080	SRR20081725	Seftenberg
MPSPGB52-4	Puebla	SAMN29633083	SRR20081721	Seftenberg
MPSPGB51	Puebla	SAMN29633079	SRR20081726	Typhimurium

Anexo 5. Distribución por serotipo de los genes de resistencia encontrados en los genomas de las cepas de *Salmonella* bajo estudio.

Serotipo (n)	Betalactámicos	Fluoroquinolonas	Macrólidos	Tetraciclinas	Fenicoles	Aminoglucósidos	Inhibidores de la vía del folato	Otros	Bombas de eflujo		
									RND	SMR	MFS
Adelaide	<i>blaTEM-1</i>	<i>qnrB19</i>	-	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul2</i>	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Agona	<i>bla-CARB-2</i> <i>bla-TEM-1</i>	<i>qnrB19</i> <i>qnrA1</i>	-	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA2</i>	<i>sul1</i> <i>dfrA12</i>	Fosmomicina: <i>fosA7.2</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Anatum	<i>bla-CARB-2</i> <i>bla-TEM-1</i>	<i>qnrB19</i> <i>qnrA1</i>	-	<i>tet(A)</i> <i>tet(B)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA2</i> <i>aac(3)-IId</i> <i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul1</i> <i>sul2</i> <i>dfrA12</i> <i>dfrA17</i>	Fosmomicina: <i>fosL.2</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Bovismorbificans	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Derby	-	<i>qnrB19</i>	-	<i>tet(A)</i>	-	<i>aadA2</i>	<i>sul1</i>	Fosmomicina: <i>fosA7.3</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Give	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Goldcoast	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Havana	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
I 4, [5], 12:i:-	<i>blaTEM-1</i>	<i>qnrB19</i>	-	<i>tet(B)</i>	-	<i>aph(3')-Ia</i> <i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul2</i>	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Infantis	-	<i>qnrB19</i>	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
London	-	<i>qnrB19</i>	-	-	-	-	-	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-
Mississippi	-	<i>qnrB19</i>	-	-	-	-	-	Fosmomicina: <i>fosA</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacE</i>
Muenchen	<i>blaTEM-1</i>	<i>qnrB19</i>	<i>Inu(F)</i>	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA1</i> <i>aadA5</i> <i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul2</i> <i>dfrA17</i>	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Newport	<i>bla-CARB-2</i> <i>bla-CMY-2</i> <i>bla-PSE</i>	<i>qnrB19</i> <i>qnrA1</i>	<i>mph(A)</i>	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA2</i> <i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul1</i> <i>sul2</i> <i>dfrA1</i>	-	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Panama	<i>blaTEM-1</i>	<i>oqxA</i> <i>oqxB</i>	-	<i>tet(M)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA2</i> <i>aph(6)-Ia</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul2</i> <i>dfrA12</i>	Bleomicina: <i>bleO</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	<i>qacL</i>	-

Rissen	<i>blaTEM-1</i>	<i>oqxA</i> <i>oqxB</i>	-	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA1</i> <i>aadA5</i> <i>aac(3)-IIId</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>sul2</i> <i>dfrA17</i>	Lincosamidas: <i>lnu(F)</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Seftenberg	<i>blaCARB-2</i>	<i>qnrA1</i>	<i>mph(A)</i>	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i>	<i>aadA2</i>	<i>sul1</i> <i>dfrA1</i>	Fosfomicina: <i>fosA</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	<i>qacEdelta-1</i>
Typhimurium	<i>bla-CTX-M-14</i> <i>blaCMY-2</i>	<i>qnrB19</i>	<i>mph(A)</i>	<i>tet(A)</i>	<i>floR</i> <i>cmlA1</i>	<i>aadA1</i> <i>aadA2</i> <i>aac(3)-Iva</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aph(3'')-Ib</i> <i>aph(4)-Ia</i>	<i>sul2</i>	Fosfomicina: <i>fosA3</i> Polimixinas: <i>mcr-1.1</i>	<i>mdsA</i> <i>mdsB</i>	-	-

Anexo 6. Datos de las 17 cepas de *Salmonella* aisladas en casos clínicos en México obtenidas de la base de datos del NCBI.

Número	Serotipo	Biomuestra
1	Newport	SAMN01933147
2	Typhimurium	SAMN10076457
3	Typhimurium	SAMN10076456
4	Typhimurium	SAMN03577702
5	Typhi	SAMN03577701
6	Muenchen	SAMN01933136
7	Enteritidis	SAMN07146547
8	Heidelberg	SAMN06883296
9	Enteritidis	SAMN07146481
10	Enteritidis	SAMN07146504
11	Enteritidis	SAMN07146506
12	Enteritidis	SAMN07146505
13	Enteritidis	SAMN07146482
14	Enteritidis	SAMN07146484
15	Newport	SAMN02367735
16	Typhimurium	SAMN02367760
17	Typhimurium	SAMN03470064