

RESISTENCIA A LAS FLUOROQUINOLONAS Y OTROS ANTIMICROBIANOS EN CEPAS DE *Salmonella* spp. AISLADAS EN EL PROCESAMIENTO DE POLLO ENTERO.

Fluoroquinolone Resistance and Other Drugs in *Salmonella* spp. Strains Isolated from Whole Chicken Processing.

Lilibeth Briceño-Torres¹, Claudia A. Narváez-Bravo², Argenis Rodas-González², Thomas E. Wittum³ y Armando E. Hoet³

¹ Facultad de Experimental de Ciencias. ² Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo, estado Zulia.

³ Department of Veterinary Preventive Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio, 43210.

E-mail: claudianarvaez519@yahoo.es

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar patrones de resistencia y multiresistencia de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de una planta procesadora de aves, hacia las quinolonas y fluoroquinolonas (ácido nalidíxico=Na, ciprofloxacina=Cf y enrofloxacin=Ex), así como a otros antimicrobianos: tetraciclinas (T), oxitetraciclina (O), neomicina (N), nitrofurantoina (Nf), trimetoprim (Tr) y cloranfenicol (C). Un total de 146 aislamientos de *Salmonella* spp. fueron obtenidos de diferentes fuentes: 34 cepas provenientes de mezclas de vísceras blancas (colón, ciegos) y vísceras rojas (hígado y bazo); 87 cepas aisladas de las canales en los procesos de desplume, eviscerado, enfriamiento y empacado; 8 cepas obtenidas de subproductos comestibles (patas, cuellos, hígados y mollejas) y 19 cepas de muestras de ambientes (agua, hielo y superficies de equipos). Se utilizaron técnicas microbiológicas convencionales, pruebas bioquímicas, serológicas y pruebas de susceptibilidad a los antibióticos por difusión en agar. Los resultados revelaron una alta resistencia para Na (73,3%; 107/146), Nf (60,2%; 88/146), T (56,2%; 82/146), O (54,8%; 80/146), Tr (54,1%; 79/146) y una menor resistencia a Ex (6,2%; 9/146), Cf (2,7%; 4/146), N (2,0%; 3/146) y C (2,5%; 4/146). Se encontró un porcentaje elevado de multiresistencia (65,0%; 95/146) y dentro de ellos, los más notorios fueron: NaNfTTr (42,1%), NaNfTr (26,3%) y NaNfT (10,5%). No se observó relación significativa ($P>0,05$) entre los patrones de resistencia y multiresistencia encontrados con el origen de las diferentes cepas de *Salmonella*. Estos resultados evidencian el surgimiento de cepas de *Salmonellas* resistentes a las quinolonas y la necesidad de programas de vigilancia de resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: Vísceras, canales, subproductos comestibles, *Salmonella* spp., fluoroquinolonas, resistencia, planta de procesamiento.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the resistance and multi-resistance patterns of strains of *Salmonella* spp. isolated in a poultry processing plant in Zulia State, to quinolones and fluoroquinolones (Nalidixic acid=Na, ciprofloxacin=Cf, and enrofloxacin=Ex), as well as other antimicrobial drugs: tetracycline (T), oxitetracycline (O), neomycin (N), nitrofurantoin (Nf), trimetoprim (Tr) and chloramphenicol (C). A total of 146 *Salmonella* isolates were obtained from different sources: 34 strains from pools of Intestines (duodenal and colon) and internal organs (liver and spleen); 87 strains of carcass samples collected in four different phases: carcasses after defeathering, evisceration, chilling, and final packed products; 8 strains from edible by-products (neck, liver, gizzard and legs) and 19 strains from environmental samples (water, ice, and equipment surfaces). The detection analyses were performed using conventional microbiological techniques, biochemical tests, serological and agar diffusion methods for antimicrobial susceptibility. The results showed a high resistance to Na (73.3%; 107/146), Nf (60.2%; 88/147), T (56.2%; 82/146), O (54.8%; 80/146), Tr (54.1%; 79/146) and low resistance to Ex (6.2%; 9/146), Cf (2.7%; 4/146), N (2.0%; 3/146) and C (2.7%; 4/146). There was observed a high percentage of multi-resistant strains (65.0%; 95/146) and within of them, the most common patterns were: NaNfTTr (42.1%), NaNfTr (26.3%) and NaNfT (10.5%). No significant relationship was observed ($P>0.05$) be-

tween resistance and multi-resistance patterns with the source of the *Salmonella* strains. These results are evidence of the emergence of resistant *Salmonella* strains to fluoroquinolones and the necessity of programs for antimicrobial resistance surveillance.

Key words: Antibiotic resistance, *Salmonella* spp. poultry slaughterhouse, poultry carcasses.

INTRODUCCIÓN

Las fluoroquinolonas son agentes antimicrobianos relativamente recientes, su origen fue a partir de las quinolonas, inicialmente utilizadas contra bacterias Gram negativas; y que posteriormente fueron modificadas químicamente (se fluorinaron, dando origen a las fluoroquinolonas) para incrementar su espectro de acción sobre bacterias Gram positivas [30, 36]. La resistencia a las fluoroquinolonas es preocupante, debido a que las fluoroquinolonas son altamente eficaces para el tratamiento de algunas enfermedades graves producidas por bacterias multirresistentes en humanos [1, 2, 19, 28, 36], y son frecuentemente utilizadas para tratamientos de infecciones causadas por *Salmonella* [20]; por lo que el uso de estas drogas en animales, ha originado una fuerte controversia [6]. Tal es el caso de los Estados Unidos, donde se aprobó en el año 2005 el uso de fluoroquinolonas con fines terapéuticos para el tratamiento de pollos [15], sin embargo, la enrofloxacin y la sarafloxacin, ya habían sido autorizadas anteriormente para su administración a través del agua de bebida, en la producción intensiva de aves [30].

Generalmente, las fluoroquinolonas usadas para el tratamiento de infecciones en animales domésticos son diferentes a las fluoroquinolonas disponibles para uso clínico humano [6]; sin embargo, la resistencia a una fluoroquinolona generalmente produce la resistencia a todas las fluoroquinolonas [29]. Esto puede indicar que los animales están actuando como reservorio de dicha resistencia e influir en la flora bacteriana de los humanos y comprometer la eficacia de las terapias antimicrobianas [25].

Cada vez son más frecuentes las cepas de *Salmonella* spp. multirresistentes y la tasa de multirresistencia ha incrementado considerablemente en años recientes [13, 35]. Durante la última década, cepas de *S. enterica* multirresistentes han sido detectadas en muchos países europeos, en particular clones multirresistentes de *S. typhimurium* DT104, lo que agrava más la situación de resistencia a los antimicrobianos [2].

En la producción avícola de Venezuela, se utilizan una gran variedad de antibióticos que incluyen las fluoroquinolonas y otros antimicrobianos; sin embargo, hay escasa información acerca del comportamiento de cepas de *Salmonella* spp. provenientes de pollos de engorde a nivel de granjas y de productos avícolas, contra estos agentes antimicrobianos, así como sobre la presencia de multirresistencia a diversas drogas. Con-

siderando que los productos avícolas son los principales vehículos de infección de *Salmonella* para humanos [4], el objetivo de esta investigación fue determinar la resistencia de cepas de *Salmonella* spp. aisladas del tracto gastrointestinal de pollos de engorde, canales, subproductos comestibles y del ambiente, en una planta procesadora de aves, contra quinolonas y fluoroquinolonas (ácido nalidixico, ciprofloxacina y enrofloxacin), y otros antimicrobianos, tales como tetraciclina, oxitetraciclina, neomicina, nitrofurantoina, trimetoprim y cloranfenicol, como también, determinar de multirresistencia de estas cepas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de cepas de *Salmonella* spp.

Con la finalidad de determinar la resistencia de cepas de *Salmonella* spp. a diferentes antimicrobianos, un total de 146 cepas fueron aisladas. Las cepas fueron obtenidas en un período de tres meses (septiembre-noviembre) en una planta procesadora de aves, con una capacidad de matanza de 45.000 aves/día, siendo esta planta una de las principales abastecedoras de pollo beneficiado en el estado Zulia (aproximadamente 25% del consumo) y algunos estados occidentales.

Las cepas de *Salmonella* se obtuvieron de diferentes fuentes: se analizaron 34 cepas provenientes de mezclas de vísceras blancas (colón, ciegos) y vísceras rojas (hígado y bazo), 87 cepas aisladas de las canales de aves en diferentes fases del proceso (desplume, eviscerado, tanque de enfriado y empacado), 8 cepas obtenidas de subproductos comestibles (patas, cuellos, hígados y mollejas) y 19 cepas aisladas de muestras de ambientes (superficies de bandas transportadoras en área de evisceración, cestas, tobogan del tanque de enfriamiento, ganchos de colgado de canales, y bandas transportadoras del área de empaque).

Aislamiento, análisis y confirmación de las cepas

La metodología empleada para el análisis de las diferentes muestras fue siguiendo los protocolos de la Food and Drug Administration (FDA) [17]. Para las muestras de vísceras y órganos se utilizó la técnica descrita por el laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades Animales del Departamento de Agricultura de Ohio, EUA (Ohio Department of Agriculture, Animal Disease Diagnostic Laboratory, ODA-ADDL) [26]. Todas las cepas aisladas fueron confirmadas mediante pruebas bioquímicas y serológicas [17] utilizando polivalentes somáticos (Poly A – I & Vi) marca Difco®. Para el control de los medios de cultivo y calidad de los discos de antibióticos, se utilizó una cepa de *Escherichia coli* ATCC (por sus siglas en inglés American Type Culture Collection) # 25922.

Pruebas de Susceptibilidad de los Antibióticos

Todas las cepas de *Salmonella* fueron analizadas utilizando el método de difusión en agar utilizando discos impregnados de antibióticos, según los criterios de la Clinical and La-

boratory Standards Institute (CLSI) antiguamente NCCLS [10]. Se probaron para cada cepa nueve diferentes discos de antibióticos (Himedia® y BBL®): enrofloxacina (Ex: 5 mcg), ciprofloxacina (Cf: 5 mcg), ácido nalidíxico (Na: 30 mcg), tetraciclina (T: 30 mcg), oxitetraciclina (O: 30 mcg), neomicina (30 mcg), trimetoprim (Tr: 5 mcg), nitrofurantoina (Nf: 300 mcg), cloramfenicol (C: 30 mcg). La selección de los diferentes antibióticos utilizados en esta investigación se basó en la historia de administración de drogas antimicrobianas como profilácticas y para tratamiento clínico de las aves en la zona.

Los inóculos bacterianos fueron preparados de forma de alcanzar una turbidez de 0,5 de la escala de McFarland para posteriormente ser transferidas a placas de agar Muller – Hinton (Oxoid®), luego fueron colocados los discos de los diferentes antibióticos en las superficies de cada placa, e incubadas a 37°C x 24 horas. Los diámetros de las zonas de inhibición fueron medidos e interpretados siguiendo el criterio CLSI M100-S16 [10] y M31-A2 [11] (TABLA I).

Cada aislamiento fue definido como resistente si mostró resistencia a uno de los antibióticos probados; y como cepas multiresistentes a aquellas que mostraron resistencia a tres o más antimicrobianos. En este último aspecto, la tetraciclina y oxitetraciclina fueron agrupadas para efectos del reporte de multiresistencia como un solo grupo, ya que, según los criterios de la norma M31-A2 de la CLSI [11], la tetraciclina es utilizada como prueba de susceptibilidad representativa para oxitetraciclina, clortetraciclina, minociclina y doxiciclina.

TABLA I
INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS DE DIFUSION POR DISCOS DE ACUERDO AL DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICIÓN/ INTERPRETATION OF THE DISK DIFFUSION TEST ACCORDING TO THE DIAMETER OF THE INHIBITION AREA.

| Antibiótico | Sensible (mm) | Resistencia intermedia (mm) | Resistente (mm) |
|-----------------|---------------|-----------------------------|-----------------|
| Na* | ≥19 | 14-18 | ≤13 |
| Ex [€] | ≥23 | 17-22 | ≤16 |
| Cf* | ≥21 | 16-20 | ≤15 |
| T* | ≥19 | 15-18 | ≤14 |
| O [€] | ≥19 | 15-18 | ≤14 |
| N** | ≥17 | 13-16 | ≤12 |
| Tr* | ≥16 | 11-15 | ≤10 |
| Nf* | ≥17 | 15-16 | ≤14 |
| C* | ≥18 | 13-17 | ≤12 |

*: Según cuadro 2A de los criterios de CLSI, M100-S16, 2006.

** : Según de las tablas de la zona de interpretación de la casa comercial (BBL®) indicado por la FDA.

€: Según la Tabla II de los criterios de la CLSI para drogas de uso veterinario M31-A2, 2002.

Donde: Na = Acido Nalidixico; Ex = Enrofloxacina; Cf=Ciprofloxacina; T=Tetraciclina; O=Oxitetraciclina; N= Neomicina; Tr= trimetoprim; Nf=Nitrofurantoina; C=Cloranfenicol.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados a través del Sistema de Análisis Estadístico (SAS) [33]. Se realizó un análisis de Ji-cuadrado para determinar las diferencias entre las frecuencias de los patrones de resistencia y multiresistencia para las cepas de *Salmonella*, según su fuente de origen (vísceras, fases de procesamiento, ambientes y subproductos), al no encontrarse diferencias significativas de los patrones según su fuente de origen, se procedió a establecer las diferencias entre los patrones de resistencia y multiresistencia general entre los diferentes antibióticos en estudio. La prueba exacta de Fisher fue utilizada cuando el número de observaciones por celda eran menores a 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Patrón de resistencia

No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los patrones de resistencia encontrados para cada antibiótico según la fuente de origen de las diferentes cepas de *Salmonella* (vísceras, fases de procesamiento, subproductos comestibles y ambiente) (datos no tabulados).

En la TABLA II se muestran los resultados generales de la sensibilidad, resistencia intermedia y resistencia de las cepas de *Salmonella* (n=146) aisladas en la planta de procesamiento.

Estos resultados muestran una elevada resistencia al ácido nalidíxico (73,3%), a la nitrofurantoina (60,2%), tetraciclina (56,2%), oxitetraciclina (54,8%) y trimetoprim (54,1%); y una resistencia menor para cloranfenicol (2,5%), ciprofloxacina (2,7%), enrofloxacina (6,2%) y neomicina (2,0%) ($P=0,0001$).

Se puede apreciar que la resistencia al ácido nalidíxico, fue el mayor porcentaje de resistencia a los antimicrobianos evaluados en esta investigación 73,3% (107/146). Este elevado porcentaje de resistencia hacia el ácido nalidíxico es alarmante, ya que, se ha reportado que la resistencia contra quinolonas de primera generación puede reducir la susceptibilidad de las cepas de *Salmonella* contra otras potentes fluoroquinolonas [9,12]. Estos hallazgos podrían indicar problemas en el tratamiento de animales con salmonelosis, debido a que animales donde se han aislado cepas de *Salmonella* resistentes a quinolonas pueden resultar, al igual que en humanos, en fracasos terapéuticos al ser tratados con fluoroquinolonas [10], lo que aumentarían las tasas de morbilidad y/o mortalidad, así como repercutir negativamente sobre costos de producción.

Aunque estas cepas de *Salmonella* no fueron aisladas de muestras clínicas de humanos, cabe destacar que estas cepas en algún momento pudiesen causar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos, debida al consumo de productos avícolas contaminados con esta bacteria, en este caso, los pacientes podrían tener problemas durante el tratamiento si son utilizadas fluoroquinolonas, por ejemplo, la

TABLA II
DISTRIBUCIÓN DE LA RESISTENCIA PARA *Salmonella* spp. AISLADAS DE UNA PLANTA PROCESADORA DE AVES/
DISTRIBUTION OF RESISTANCE OF *Salmonella* spp. ISOLATED FROM A POULTRY SLAUGHTER PLANT

| Antibiótico | N | Sensible (%) | Resistencia intermedia (%) | Resistente (%) |
|-------------|-----|--------------|----------------------------|----------------|
| Na | 146 | 23 (15,7) | 16 (10,9) | 107 (73,3) |
| Ex | 146 | 68 (46,6) | 69 (47,3) | 9 (6,2) |
| Cf | 146 | 131 (89,7) | 11 (7,5) | 4 (2,7) |
| T | 146 | 40 (27,4) | 24 (16,5) | 82 (56,2) |
| O | 146 | 29 (19,9) | 37 (25,3) | 80 (54,8) |
| N | 146 | 125 (85,6) | 18 (12,3) | 3 (2,0) |
| Tr | 146 | 67 (45,9) | 0 (0) | 79 (54,1) |
| Nf | 146 | 55 (30,8) | 4 (2,8) | 88 (60,2) |
| C | 146 | 135 (92,5) | 7 (4,8) | 4 (2,5) |

Donde: Na=Acido Nalidixico; Ex=Enrofloxacina; Cf=Ciprofloxacina; T=Tetraciclina; O=Oxitetraciclina; N= Neomicina; Tr= trimetropin; Nf=Nitrofurantoina; C=Cloranfenicol. El análisis de Ji-cuadrado indicó que la distribución es diferente por droga antimicrobiana (P=0.001).

ciprofloxacina es una de las drogas de elección para problemas gastrointestinales en humanos, y como se menciono anteriormente, cepas de *Salmonella* spp. que muestren resistencia al ácido nalidixico, pueden presentar resistencia cruzada contra otras fluoroquinolonas; por lo tanto, es posible la ocurrencia de fracasos terapéuticos en pacientes tratados por salmonelosis extraintestinal con fluoroquinolonas [9, 10].

Investigaciones realizadas en Europa y Asia, donde se ha estudiado la resistencia de cepas de *Salmonella* al ácido nalidixico obtenidas de productos de origen animal (cerdo, res y pollo), han reportado una resistencia menor a la encontrada en este estudio. En Portugal se reportó una resistencia del 50% al ácido nalidixico de las cepas de *Salmonella* [3]; en Austria, encontraron una resistencia del 42% [24] e Irlanda una resistencia del 3% [18]; mientras que Japón, reportó una resistencia de 9,8% en cepas de *Salmonella* [16]. En países Latinoamericanos, aunque han encontrado resistencia al ácido nalidixico, los porcentajes son mucho menores. En Chile se reportó un 41,4% de resistencia [31] y en Brasil una resistencia del 7,7% [14]. En un estudio previo en Venezuela, solo ha obtenido una resistencia de 54,9% [32].

En cuanto a la ciprofloxacina y enrofloxacina se encontró una baja resistencia, 2,7% (4/146) y 6,2% (9/146), respectivamente, observándose una tendencia hacia el aumento de la resistencia en la enrofloxacina, dado que la resistencia intermedia fue de 47,3%, que podría explicarse debido al uso de este antimicrobiano en substitución del ácido nalidixico y tetraciclinas, las cuales fueron muy utilizadas durante varios años en las explotaciones avícolas del estado Zulia. Es importante destacar que para el momento en que se tomaron las muestras se estaba utilizando la ciprofloxacina en las aves de engorde como tratamiento clínico.

Al revisar otras investigaciones, podemos observar que hay una tendencia similar de resistencia hacia la ciprofloxacina y enrofloxacina de cepas de *Salmonella* aisladas de fuentes

animales o alimentos de origen animal. En Portugal [3] y en Irlanda [18] reportaron una resistencia del 50% de las cepas de *Salmonella* spp. evaluadas a la enrofloxacina. En Austria encontraron una resistencia a la ciprofloxacina de 9,6% [24] y en Japón una resistencia a la enrofloxacina del 1,2% [16]. Contrariamente a estas investigaciones, otros países como Chile, Brasil y Canadá reportan sensibilidad de cepas de *Salmonella* spp. a la ciprofloxacina [14, 22, 31]. La elevada resistencia encontrada para el ácido nalidixico indica que probablemente estas cepas estén muy cerca de adquirir resistencia contra el resto de las fluoroquinolonas, como fue mencionado en párrafos anteriores.

El comportamiento de *Salmonella* spp. para la tetraciclina y oxitetraciclina fueron del 56,2% (82/146) y 54,8% (80/146), respectivamente. Estos resultados se consideran elevados y concuerdan a los obtenidos en un estudio nacional en el año 1995, donde reportan una resistencia para tetraciclina del 54,9% de las cepas aisladas de productos avícolas [32]. Otras investigaciones a nivel mundial, han encontrado resistencias desde 15,4 a 50% de las cepas de *Samonella* spp. aisladas de fuentes animales o alimentos de origen animal [8, 14, 22, 23].

Para el cloranfenicol, la resistencia obtenida en este estudio fue de 2,5% (4/146). Dias de Oliveira y col. [14] en Brasil, consiguieron una resistencia del 1,1%. Contrariamente, en otros países se han reportado porcentajes de resistencia moderadas y elevadas. En Austria, la resistencia ha sido del 17% [24] y en Japón del 26,8% [16]. En Estados Unidos, los porcentajes de resistencia reportados son más elevados; Davis y col. [12], hallaron un 46,6% de resistencia para cepas provenientes de fuentes humanas, mientras que Logue y col. [23] encontraron un 42% de resistencia de cepas aisladas de productos avícolas de pavos.

Los porcentajes de resistencia al trimetoprim hallados en esta investigación son más elevados (54,11%; 79/146) a los

descritos por varios autores. Davis y col. [12] en Estados Unidos reportaron una resistencia en cepas humanas del 2,0%. Días de Oliveira y col. [14] en Brasil fue del 3,3%, mientras que Esaki y col. [16] en Japón fue del 22%.

Se encontraron porcentajes bajos de resistencia contra neomicina, del 2,0% (3/146), pero se podría esperar que estos porcentajes aumenten con el tiempo, ya que, la resistencia intermedia para la neomicina fue de 12,3% (18/146). En un estudio nacional se reportó una resistencia de 7,1% [32]. Contrario a estos resultados, en España han encontrado valores elevados de resistencia del 53,4% [8].

Para la nitrofurantoina se encontró una resistencia del 60,2% (88/146). Estudios realizados por Días de Oliveira y col. [14] reportaron una resistencia de cepas provenientes de canales de aves y de pollo, de un 86,4 y 81%, respectivamente. En Japón se reportó un 22% de resistencia en cepas provenientes de bovinos, cerdos y aves [16].

Las diferencias y semejanzas observadas en todas las investigaciones citadas en cuanto a la resistencia a los diferentes antibióticos de cepas de *Salmonella*, probablemente se deba a las diferencias en cuanto a regulaciones para el uso de antibióticos, así como a las diferencias en su manejo (dosis, uso profiláctico o clínico, etc.) en los diferentes países objeto de estas investigaciones, sin embargo, la tendencia observada es hacia el aumento de la resistencia.

Patrón de multiresistencia

No se observaron diferencias significativas (P=0,1) entre los patrones de multiresistencia encontrados y el origen de las diferentes cepas de *Salmonella* (vísceras, fases de procesamiento, subproductos comestibles y ambiente) (datos no tabulados).

En la TABLA III, se aprecian los patrones de multiresistencia general de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas en la planta de procesamiento. Se encontró que 95 cepas de 146, mostraron patrones de multiresistencia, correspondiendo al 65,0%. Se encontraron 15 patrones de resistencia, los siguientes fueron los más comunes: ácido nalidixico (Na), nitrofurantoina (Nf), Tetraciclina (T), Trimethoprim (Tr): (NaNfTTr), representado 42,1% (40/95), seguido por el patrón de ácido nalidixico, nitrofurantoina, Trimetropin: (NaNfTr) con un 26,3% (25/95) y NaNfT con 10,5% (10/95) (P=0,0001).

Johnson y col. [21] estudiaron la resistencia antimicrobiana en 209 cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos de origen animal, 11,8% fueron positivas para la resistencia, caracterizándose por presentar un patrón común de multiresistencia para ampicilina, cloramfenicol, estreptomina, sulfamethoxazol, tetraciclina y ticarcillina. La resistencia más comúnmente encontrada para las muestras de pollo evaluadas por estos autores (n= 154) fue para tetraciclina, estreptomina y sulfametoxazol; los rangos de resistencia oscilaron entre 18% y 28%.

TABLA III
DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRÓNES DE MULTIRRESISTENCIA PARA *Salmonella* spp. AISLADAS DE PLANTA PROCESADORA DE AVES^a/ DISTRIBUTION OF MULTIRESTANCE PATTERNS TO *Salmonella* spp. ISOLATED FROM A POULTRY SLAUGHTER PLANT

| Patrón de multiresistencia | Frecuencia del patrón (%) |
|----------------------------|---------------------------|
| NaNfTr | 25 (26,3) |
| NaNfT | 10 (10,5) |
| ExNaT | 6 (6,3) |
| NaTTr | 3 (3,2) |
| NfTTr | 1 (1,1) |
| NaNfTTr | 1 (1,1) |
| CfNaNfTr | 1 (1,1) |
| CNaNfTr | 1 (1,1) |
| NaNfTTr | 40 (42,1) |
| NNaNfT | 1 (1,1) |
| ExNaNfTTr | 2 (2,1) |
| NNaNfTTr | 1 (1,1) |
| CNaNfTTr | 1 (1,1) |
| CCfNaNfTTr | 1 (1,1) |
| CCfExNaNfTTr | 1 (1,1) |
| Total | 95 (65,0*) |

Donde: Na= Acido Nalidixico; Ex= Enrofloxacina; Cf= Ciprofloxacina; T= Tetraciclina + Oxitetraciclina; N= Neomicina; Tr= trimetropin; Nf= Nitrofurantoina; C= Cloranfenicol. ^a: se consideró como multiresistentes a las cepas que mostraron resistencia a 3 o más antimicrobianos. *El porcentaje fue en base al total de cepas analizadas (n: 146). El análisis de Ji-cuadrado indicó que la distribución es diferente por patrón de multiresistencia (P=0,0001).

Larkin y col. [22] observaron la multiresistencia en cepas de *Salmonella* aisladas de muestras de aves, en 42% correspondiente al método de dilución en agar y 33% para el método de microdilución en caldo. En otro estudio reportado por Carramiñana y col. [8] muestran multiresistencia en 87 cepas (65,4%), el patrón fue el siguiente: neomicina+tetraciclina+sulfadiazina.

Una investigación conducida por Brown y col. [6] reportó multiresistencia (resistencia a 3 o más antibióticos) en todas las muestras de productos de pollos, mientras que Antunes y col. [3] reportaron que un 75% de las cepas de *Salmonella* aisladas eran resistentes a uno o más agentes antimicrobianos, estos resultados son más elevados que los resultados obtenidos en este estudio, donde se encontró resistencia frecuente a más de tres antibióticos de 65% (95/146).

En el 2000, 40% de 27.059 muestras de *Salmonella* mostraron resistencia al menos a un antimicrobiano, 18% exhibió multiresistencia (para 4 o más agentes antimicrobianos) [34]. El porcentaje de resistencia a más de cuatro antimicrobia-

nos encontrado en esta investigación fue de 34,2% (50/146) (datos no tabulados) más elevados que la reportado por estos autores.

Los elevados porcentajes de resistencia encontrados en este estudio para los antimicrobianos evaluados, podrían explicarse debido al uso extendido de antibióticos en las explotaciones avícolas en el estado Zulia durante muchos años como profilácticos o utilizados para tratamiento de enfermedades. La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno evolutivo natural que puede verse acelerado por diferentes factores [7]. Uno de los factores más relevantes es el suministro excesivo e inadecuado de antibióticos, ya que favorece la selección y difusión de cepas resistentes que provocan un aumento de fracasos terapéuticos [5, 7, 15]. Por otro lado es alarmante encontrar resistencia contra drogas como el cloranfenicol, que son utilizadas con restricciones, debido a que puede causar aplasia medular [30]. El cloranfenicol no es adicionado al alimento animal y tampoco es utilizado como tratamiento terapéutico común, en aves en el estado Zulia según la información suministrada por la empresa. El hecho de que cepas de *Salmonella* mostraron resistencia contra drogas que no han sido utilizadas en granjas, podría ser indicativo de que otros factores, como la transferencia genética u otras fuentes de contaminación e infección por *Salmonella*, que entran en contacto con las aves o alimentos, pueden estar jugando un rol importante en la evolución de cepas de *Salmonella* hacia la resistencia y multiresistencia frente a diversas drogas antimicrobianas [13, 27].

Es importante considerar el riesgo de que cepas de *Salmonella* resistentes provenientes de aves, pueden estar llegando a otras especies animales, esto debido al empleo de desechos de aves como yacija para alimentación de bovinos y de vísceras para alimentación de cerdos, lo que pudiese agravar la situación de multiresistencia a nivel de especies animales de abasto.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se evidenció un alto porcentaje de resistencia para ácido nalidíxico y de resistencia intermedia contra la enrofloxacina, lo cual indica el surgimiento de cepas de *Salmonellas* resistentes a las fluoroquinolonas.

Existe un elevado porcentaje de resistencia a nitrofurantoina, tetraciclinas y trimetoprim.

A pesar del alto porcentaje de multiresistencia en las cepas *Salmonella* spp. obtenidas en las operaciones de procesamiento, vísceras, subproductos y ambiente, no se evidenció diferencias entre ellas.

Los resultados encontrados en esta investigación, alertan a la población a nivel nacional sobre el incremento paulatino de la resistencia de las bacterias a los diferentes antimicrobianos utilizado en animales.

Se deben realizar otras investigaciones a nivel nacional que ayuden a definir la situación actual de efectividad de los diferentes antimicrobianos utilizados en el área veterinaria, de forma de establecer medidas de control, tales como programas de vigilancia y/o el establecimiento de políticas para el uso racional y controlado de las diversas drogas utilizadas en la producción de animales de abastos.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del CONDES-LUZ, del Departamento de Enfermedades Transmisibles de la Universidad de Ohio (The Ohio State University) y del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ. Se hace un especial agradecimiento a las explotaciones avícolas que dieron su invaluable colaboración durante la recolección de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ACAR, JF.; GOLDSTEIN, FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. **Clin Infect Dis.** 24. Supl 1: S67-S73. 1997.
- [2] ANGULO, F.; JONHSON, K.; TAUXE, R.; COHEN, M. Significance and sources of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections in United States. **Microbial Drug Resist.** 6(1):77-83. 2000.
- [3] ANTUNES, P.; REU, C.; SOUSA, J.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **Int J Food Microbiol.** 82(2):97-103. 2003.
- [4] BEAN, N.H.; GRIFFIN, P. M. Food -borne diseases outbreaks in the United States, 1973-1987: Pathogens and trends, **J. Food Prot.** 53:804. 1990.
- [5] BRONZWAER, S.; CARS, O.; BUCHHOLZ, U.; MÖLSTAD, S.; GOETTSCHE, W.; VELDHUIJZEN, I.K.; KOOL, J.L.; SPRENGER, M.J.; DENEGER, J.E. An european study on the relationship between antimicrobial use and antimicrobial resistance. **Emerg Infect Dis** 8(3):278-282. 2002.
- [6] BROWN, S.A. Fluoroquinolones in animal health. **J Vet Pharmacol Ther.** 19: 1-14. 1996.
- [7] CAMPOS, J.; BAQUERO, F. Resistencia a antibióticos: ¿qué hacer ahora? **Med Clin.** 119: 656-658. 2002.
- [8] CARRAMIÑANA, J.; ROTA, C.; AUGUSTIN, I.; HERRERA, A. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. **Vet Microbiol.** 104(1-2):133-9. 2004.
- [9] CEBRIAN, L.; RODRÍGUEZ, J.C.; ESCRIBANO, I.; RUIZ, M.; ROYO, G. Disminución de la actividad bacteri-

- cida del ciprofloxacino en mutantes de *Salmonella* generados tras exposición repetida a diversas fluoroquinolonas. **Rev. Esp. Quimioterap.** 4(19). 363-366pp. 2006.
- [10] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI): Normas para Realizar las Pruebas para Sensibilidad a los Antimicrobianos; desimosexto suplemento informativo. Documento M100-S16. 6(3). 32-36 pp. 2006.
- [11] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Aproved standard. Second Edition. Document M31-A2. 22(6). 56-58pp. 2002.
- [12] DAVIES, R.; TEALE, C.; WRAY, C.; MC LAREN, I.; JONES, Y.; CHAPPELL, S. Nalidixic acid resistance in *Salmonella* isolated from turkeys and other livestock in Great Britain. **Vet Rec.** 144: 320-322. 1999.
- [13] DAVIS, M.; HANCOCK, D.; BESSER, T.; RICE, D.; GAY, J.; GAY, C.; GEARHART, L.; DIGIACOMO, R. Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from humans and cattle in the Northwester United States, 1982-1997. **Emerg. Inf. Dis.** 5(6):802-806. 1999.
- [14] DIAS DE O, S.; SIQUEIRA F, F.; RUSCHEL DOSANTOS, L.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis* strains isolated from broilers carcasses, food, human and poultry - related samples. Intern. **J. Food Microbiol.** 97: 297- 305. 2005.
- [15] DOYLE, M.P., ERICKSON, M.C. Emerging microbiological food safety issues related to meat. **Meat Sci.** 74: 98-112. 2006.
- [16] ESAKI, H.; MORIOKA, A.; ISHIHARA, K.; KOJIMA, A.; SHIROKI, S.; TAMURA, Y.; TAKAHASHI, T. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese veterinary antimicrobial monitoring program. **J. Ant. Chemoth.** 53: 266-270. 2004.
- [17] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bateriological Analytical Manual Chapter 5. Salmonella.** 9th Ed. U.S.A. 2003 (Documento en línea). Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html> Consultado 19-03-2005.
- [18] GORMAN, R.; ADLEY, C. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from human, food, and animal sources in the Republic of Ireland. **J. Clin. Microbiol.** 42(5):2314-2316. 2004.
- [19] GUTIÉRREZ, J.A.; LÓPEZ, R. Repercusiones en la Salud Pública de la Resistencia a Quinolonas en bacterias de origen animal. **Rev. Esp. Salud Pub.** 75: 313-320. 2001.
- [20] HAKANEN, A.; SIITONEN, A.; KOTILAINEN, P.; HUOVINEN, P. Increasing fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serotypes in Finland during 1995–1997. **J Antim Chemoth.** 43, 145-148. 1999.
- [21] JOHNSON, J.; RAJIC, A.; MCMULLEN, L. Antimicrobial resistance of selected *Salmonella* isolates from food animals and food in Alberta. **Can Vet J.** 46:141-146. 2005.
- [22] LARKIN, C.; POPPE, C.; MCNACB, B.; MCEWEN, B.; MAHDI, A.; ODUMERU, J. Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from hog, beef, and chicken carcass simples from provincially inspected abattoirs in Ontario. **J. Food Prot.** 67(3):448-55. 2004.
- [23] LOGUE, C.M.; SHERWOOD, J.S.; OLAH, P.A.; ELIJAH, L.M.; DOCKTER, M.R. The incidence of antimicrobial - resistance *Salmonella* spp. On freshly processed poultry from US Midwestern processing plant. **J. Appl. Microbiol.** 94:16-24. 2002.
- [24] MAYRHOFER, S.; PAULSEN, P.; SMULDERS, F.J.M. HILBERT, F. Antimicrobial resistance profile of five major food – borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. International. **J. of Food Microbiol.** 97:23-29. 2004.
- [25] O'BRIEN, S. J.; VALK, H. *Salmonella*-“old” organisms, continued challenges **Eurosurveill.** 8 (2):29-3. 2003.
- [26] Ohio Department of Agriculture. *Salmonella*. Animal Disease Diagnostic Laboratory (ODA-ADDL). **Mycrobiology Methods Manual.** Reynoldsburg, OH. USA. 30-35pp. 2002.
- [27] ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Use of quinolones in food animals and potential impact on human health. **Informe de una reunión de la Organización Mundial de la salud;** 1998 junio 2-5. Ginebra, Suiza. 1-17pp. 1998.
- [28] PEDERSEN, K.B.; AARESTRUP, F.M.; JENSEN, N.E.; BAGER, F.; JENSEN, L.B.; JORSAL, S.E. The need for a veterinary antibiotic policy. **Vet Rec.** 145: 50-53. 1999.
- [29] PIDDOCK, L.J.V.; WISE, R. Mechanisms of resistance to quinolones and clinical perspectives. **J Antimicrob Chemoth;** 23: 475-480. 1989.
- [30] PRESCOTT, J.F.; BAGGOT, J.D.; WALKER, R.D.. **Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine.** Chapter 15: Fluoroquinolones. 3era Ed. Iowa State Press. 315-338pp. 2000.
- [31] SAN MARTIN, B.; LAPIERRE, L.; TORO, C.; BRAVO, V.; CORNEJO, J.; HORMAZABAL, J.C.; BORIE, C. Isolation and molecular characterization of quinolone resistant *Salmonella* spp. from poultry farms. **Vet. Microbiol.** 110: 239-244. 2005.
- [32] SANDOVAL, T.; INFANTE, D.; NOGUERA, C.; LEÓN, A.; HERRERA, A.; VALDILLO, P. Acción in vitro de

- agentes antimicrobianos en cepas de *Salmonella* gallinarum aisladas en Venezuela. **Vet. Trop.** 20:27-35. 1995.
- [33] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (S.A.S). User's Guide: Statistics. S.A.S. (Release 6, 03). Cary. NC. 1996.
- [34] THRELFALL, E.J.; FISHER, I.S.T.; BERGHOLD, C. GERNER-SMIDT, P.; TSCHÄPE, H.; CORMICAN, M.; LUZZI, I.; SCHNIEDER, F.; WANNET, W.; MACHADO, J.; EDWARDS, G. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe 2000: results of international multi-centre surveillance. **Eurosurveill** 8:41-5. 2003.
- [35] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Drug – resistant *Salmonella*. Fact sheet N° 139. On Line: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html>. Consultado 06-05-2005.
- [36] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Use of quinolones in food animals and potencial impact in human health. Report of a WHO Meeting Geneva, Switzerland. On-Line <http://www.who.int/emc>. 1-17pp.1998. Consultado 01-01-2007.