

---

## Presencia de integrones clase I y II para resistencia antimicrobiana en serotipos de *Salmonella* de importancia pecuaria en el Noroeste de México

Manuel-Alejandro Borquez-Román<sup>1</sup>, Jesús Vázquez-Navarrete<sup>2</sup>, Claudia Córdova-Barrios<sup>2</sup>,  
Fernando Lares-Villa<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales, Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. Instituto Tecnológico de Sonora.

<sup>2</sup>CENID-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Carretera México-Toluca km 15.5, Palo Alto, Distrito Federal. CP 05110.

<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Instituto Tecnológico de Sonora. 5 de Febrero 818 Sur, Cd. Obregón, Sonora. CP 85000..

---

Artículo recibido el 19 de agosto de 2019 y aceptado el 1 de octubre de 2019

---

*Presence of class I and II integrons for antimicrobial resistance in Salmonella serotypes of livestock importance in Northwestern Mexico*

### Abstract

In recent years it has been reported the existence of genetic units called integrons, capable of harboring antibiotic resistance genes. *Salmonella* spp., Due to its importance in public and animal health, and its increased resistance to antimicrobials, is one of the most studied groups of bacteria. In order to determine the relationship between antimicrobial resistance and the presence of class I and II integrons, 185 strains identified as *Salmonella* were studied and obtained from various sources in the northwest of the country. Antibiograms were performed for the isolates and their identity was corroborated by phenotypic, serological and genotypic means; The presence of class I and II integrons was sought using the real-time PCR technique. The serotypes found were *Salmonella* Choleraesuis (47%), *Salmonella* Enteritidis (10.8%) and *Salmonella* Typhimurium (11.9%); 30.3% could not be typified with the antiserum set for group D and E. Of the 12 antimicrobials used, the 185 strains tested were sensitive to amikacin and netilmicin while for the other 10 antimicrobials, different degrees of resistance were found. The resistance was presented from one to seven antibiotics. 29.18% of the strains presented multiresistance for more than three antibiotics. 37.29% of the *Salmonella* studied presented the class I integron, and only 1.1% presented the class II integron. The relationship between the isolates that presented class I and antimicrobial resistance was with the antibiotics of pefloxacin (100%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (90.5%). Likewise, those who showed multi-resistance presented class I integron in 57.40% of the cases. It is concluded that these isolates carry at least the two classes of integrons and that there is a correlation with the profile obtained with antibiograms and multiresistance.

*Key words: Salmonella, antibiotics, antimicrobial resistance, susceptibility, diseases, pig farming, poultry, transmission.*

### Resumen

En años recientes se ha reportado la existencia de unidades genéticas denominadas integrones, capaces de albergar genes de resistencia a antibióticos. *Salmonella* spp., por su importancia en la salud pública y animal,

---

\* Autor de correspondencia

E-mail: flares@itson.edu.mx

ISSN 2594-0384 (Electrónica)

y a su incremento en la resistencia antimicrobiana, es uno de los grupos de bacterias más estudiados. Con el fin de determinar la relación entre la resistencia a antimicrobianos y la presencia de integrones clase I y II, se estudiaron 185 cepas identificadas como *Salmonella* y que fueron obtenidas de diversas fuentes del noroeste del país. A los aislamientos se les hicieron antibiogramas, se corroboró su identidad por medios fenotípicos, serológicos y genotípicos, y se buscó la presencia de integrones clases I y II mediante la técnica de PCR en tiempo real. Los serotipos encontrados fueron *Salmonella* Choleraesuis (47%), *Salmonella* Enteritidis (10.8%) y *Salmonella* Typhimurium (11.9%); el 30.3% no se pudo tipificar con el juego de antisueros para el grupo D y E. De los 12 antimicrobianos utilizados, las 185 cepas probadas fueron sensibles a amikacina y netilmicina mientras que para los otros 10 antimicrobianos, se encontraron diferentes grados de resistencia. La resistencia se presentó desde uno hasta siete antibióticos. El 29.18% de las cepas presentó multirresistencia para más de tres antibióticos. El 37.29% de las salmonelas estudiadas presentaron el integrón clase I, y solo el 1.1 % presentó el integrón clase II. La relación entre los aislamientos que presentaron integrón clase I y resistencia antimicrobiana fue con los antibióticos pefloxacina (100%) y trimetoprim-sulfametoxazol (90.5%). Asimismo, los que mostraron multirresistencia presentaron el integrón clase I en el 57.40 % de los casos. Se concluye que estos aislamientos portan cuando menos las dos clases de integrones y que existe una correlación con el perfil obtenido con los antibiogramas y la multirresistencia.

*Palabras claves:* *Salmonella*, antibióticos, resistencia antimicrobiana, susceptibilidad, enfermedades, porcicultura, avicultura, transmisión.

## Introducción

Las bacterias del género *Salmonella* están constituidas por más de 2,500 serovariedades (Pati et al., 2013), siendo los serotipos *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Enteritidis y *Salmonella* Typhimurium patógenos que infectan a varias especies de animales destinados a la producción pecuaria, lo cual ocasiona pérdidas económicas y causan problema para la salud pública (Arcos-Ávila y Mora-Cardona, 2011). La salmonelosis constituye una de las más comunes y ampliamente distribuidas enfermedades transmitidas por los alimentos, constituyéndose en un problema de salud pública y produciendo elevados gastos en los sistemas de seguridad social (Mejía et al., 2008). Una variedad de alimentos han sido implicados como vehículos de transmisión de la salmonelosis a los humanos, incluidos los de aves de corral, carne de res, carne de cerdo, huevos, leche, queso, pescado, mariscos, frutas, jugo y verduras (Khan et al., 2009). En México, cada año se reportan alrededor de 110 000 casos de salmonelosis asociados al consumo de agua y alimentos contaminados (DGE, 2006). Los medicamentos más auto recetados son ciprofloxacina, aminoglucósidos y tetraciclinas para el tratamiento de infecciones. Diversos reportes han mostrado un incremento en la emergencia de *Salmonella* y *E. coli* con niveles significativos de resistencia a los antimicrobianos. En adición a la automedicación terapéutica, en veterinaria y en

agricultura se aplican antimicrobianos de manera indiscriminada (López-Cuevas et al., 2009). El objetivo de este trabajo fue identificar la presencia de integrones clase I y II para determinar la resistencia antimicrobiana en varios serotipos del género *Salmonella*, aisladas de alimentos y animales de importancia pecuaria en el noroeste de México.

## Materiales y métodos

Para este estudio se obtuvieron 185 cepas del género *Salmonella* a partir de casos clínicos de cerdos, aves y alimentos. Los aislamientos se corroboraron con pruebas bioquímicas de rutina. Posteriormente se realizó la serotipificación de los aislamientos acuerdo al esquema de Kauffman y White utilizando antisueros dirigidos para el antígeno somático "O" y flagelar "H" para el género *Salmonella*. Se realizó un perfil de la resistencia antimicrobiana en todos los aislamientos por medio del método de difusión en gel (Kirvy Bauer) para bacterias gramnegativas. Después se realizó la extracción de ADN utilizando un juego comercial (InstaGene™ Matrix) y el DNA fue cuantificado para realizar los PCR (NanoDrop® ND-1000). Todos los aislamientos fueron analizados por PCR en tiempo real (Fuentes-Arriaga et al., 2013). Para la identificación de la integrasa clase I se utilizaron los oligonucleótidos (IntAf GGCATCCAAGCAGCAAGC e IntAr AAGCAGACTTGACCTGAT) y para la clase II

(IntBf ATCGCAATAGTTGGCGAGT IntBr GCAAGGCGGAAACCCGCGCC) (Lynne *et al.*, 2008).

## Resultados

### Origen de las cepas

Las cepas se obtuvieron de dos laboratorios de servicios para el diagnóstico de enfermedades pecuarias durante el periodo comprendido entre septiembre 2013 - marzo 2014, y localizados en Cd. Obregón, Sonora. Las cepas de *Salmonella* fueron aisladas de muestras de órganos, alimentos y heces, cuyo origen por especie animal aparecen en la tabla 1.

### Serotipificación

Se encontraron 87 cepas positivas (47%) al antígeno flagelar C para *S. choleraesuis*, 20 cepas (10.8%) fueron positivas al antígeno somático 1, 9, 12 para

*S. enteritidis*, 22 cepas (11.9%) para el antígeno flagelar I para *S. typhimurium* y el 30.3% no tipificó con estos antígenos.

### Análisis de la resistencia antimicrobiana

De las 185 cepas, en los que se observó mayor resistencia, fueron carbenicilina con 41 %, ampicilina con 39.46 % y cloranfenicol con 36 %, mientras que los antibióticos en donde no hubo resistencia fueron amikacina, ceftriaxona y netilmicina. Como se observa los antimicrobianos de preferencia para ser utilizados como tratamiento de las infecciones siguen siendo los antimicrobianos pertenecientes a la familia de las penicilinas, ampicilina (AM) y carbenicilina (CB).

### Amplificación del fragmento del gene *invA*

Amplificación del fragmento de 378 pb que corresponde al Gen INVA con el cual se corroboró que se trataba en un 100 % de cepas de *Salmonella*.

### Identificación de los genes de la integrasa clase I y

Tabla 1. Aislamientos del género *Salmonella* obtenidos en el Sonora, México.

Organismo	Fuente de obtención del aislamiento			Total
	Órganos	Alimento	Heces	
Porcinos	86	81	16	183
Bovinos	1	0	0	1
Aves	1	0	0	1
Total	88	81	16	185

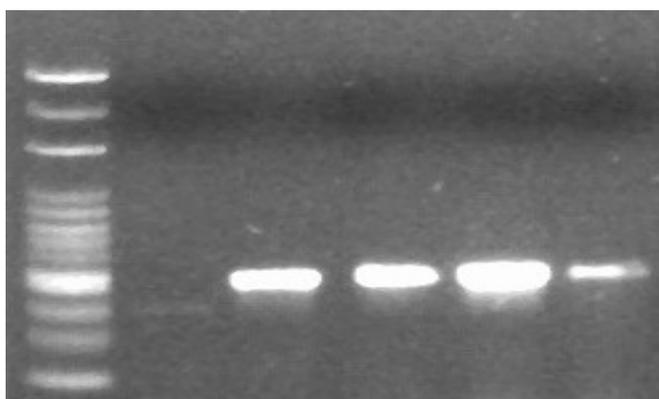


Figura 1. Gel de agarosa mostrando la amplificación del gen *Inva*. Carril 1 marcador de peso molecular, carril 2 control negativo, carril 3 control positivo, carril 4 cepa PNM015, carril 5 cepa PNM018, carril 6 cepa PNM020.

**II**

De las 185 cepas de *Salmonella*, 69 (37.29%) presentaron el integron clase I, y solamente 2 cepas (1.1%) expresaron el gen de la integrasa clase II.

*Comparación entre serotipificación y presencia de integrones.*

De las 87 cepas que fueron identificadas como *S. choleraesuis* 27 (31.03%), presentaron el integron clase I, 20 cepas fueron *S. enteritidis* de las cuales 7 (35%) presentaron el integron I, 22 cepas fueron *S. typhimurium* de las cuales 9 (40.91%) presentaron el integron I y de las 56 que no tipificó con estos serogrupos 26 (46.42%) presentaron el integron clase I. El integron clase II solamente se presentó en 1 cepa de *S. choleraesuis* y en una de *S. typhimurium*.

*Cepas resistentes a antimicrobianos que presentaron integrones.*

Hay una relación de más del 50 % entre la resistencia a los antibióticos y la presencia del

para AM de un 35.5% y para CB de un 96.8%, Inocencio en 2011 obtuvo un perfil de resistencia para AM de un 29% y para CB un 39%, Douadi *et al.* en 2010 para AM un 29.7%; también se obtuvo un valor alto de resistencia a un anfenicol que es el cloranfenicol (CL). Otros autores también obtuvieron valores altos de resistencia para este antimicrobiano, Inocencio en 2011 obtuvo un 27%, Douadi *et al.*, 2010 obtuvieron un 21.2%, Rayamajhi *et al.*, 2008 encontraron un 56.8%, que como se observa también sigue siendo uno de los antimicrobianos más utilizado desde hace muchos años para el control de la salmonelosis en la producción porcina mundial a pesar de ser prohibido por producir aplasia medular en niños (Mejia *et al.*, 2008), a pesar de la creación de un anfenicol de nueva generación (florfenicol). Este nuevo antimicrobiano conserva todas las cualidades farmacológicas y farmacocinéticas de su antecesor y por otro lado se elimina el efecto sobre la medula ósea. Por otro lado, se observa que algunas opciones serían la utilización de otros antimicrobianos como

**Tabla 2. Resistencia antimicrobiana y presencia de integrones clase I y II.**

No antibióticos	No cepas	Integron clase I	Integron clase II
0 antibióticos	80	15	0
1 antibiótico	27	10	2
2 antibióticos	24	10	0
3 antibióticos	17	5	0
4 antibióticos	9	4	0
5 antibióticos	17	14	0
6 antibióticos	4	4	0
7 antibióticos	7	7	0
	<b>185</b>	<b>69</b>	<b>2</b>

integrón clase I siendo en un 100 % para pefloxacina, un 90.47 % para trimetoprim-sulfametoxazol

**Discusión**

En este estudio se encontró una resistencia, para CB de 41 %, para AM de 39.46 % y CL de 36 %, Córdoba en 2008 encontró un perfil de resistencia

es el caso de ceftriaxona (CTX), que es una cefalosporina de tercera generación, donde en este estudio se obtuvo un 0% de cepas resistentes, en otros estudios se obtuvieron valores muy bajos de resistencia, Córdoba en 2008 obtuvo 1.61%, Inocencio en 2011 encontró un 4%, y Mejia *et al.*, 2008, reportaron un 1 %.

De las 185 cepas de *Salmonella*, 69 (37.29%) presentaron el integrón clase I, y solamente 2 cepas

(1.1%) expresaron el gen de la integrasa clase II. En otros estudios, Córdova en 2008 encontró la presencia del integrón I en 22 (38.59 %) y el integrón clase II en 22 (38.59 %), Peirano *et al* en 2006 en Brasil obtuvieron la presencia del integrón clase I en 55 (40.74 %) cepas y del integrón II en 1 (0.74 %) cepa de un total de 135 cepas de *Salmonella*. Por lo tanto la presencia de los integrones varió entre un estudio y otro ya que cada clase de integrón codifica resistencia a distintos antibióticos y como en los estudios no hubo el mismo origen de las cepas los antibióticos empleados no fueron los mismos y como el integrón clase I tiene la capacidad de incorporar más de 60 genes de resistencia principalmente a aminoglucosidos como la gentamicina, amikacina, Penicilinas, cloranfenicol, tetraciclina, eritromicina, cefalosporinas, trimetoprim/sulfonamidas, por tal motivo la presencia de este integron se encontró con mayor frecuencia esto corrobora con otros autores, (Coque-González, 2005), (Cambray *et al.* 2010).

Los integrones son elementos genéticos que transportan genes de resistencia, ocasionando que las cepas generen multiresistencia, principalmente el integron clase I, el cual se encuentra aproximadamente entre 22% y 59% de los aislados de bacterias Gram-negativas (Cambray 2010). Inocencio en 2011 encontro la presencia del integrón clase I en el 65 % de las cepas de *Salmonella enterica* aisladas de alimentos en Michoacán, Majtánová *et al* en 2010 encontraron el integrón clase I en 40.41 % de las cepas de *Salmonella typhimurium* aisladas de humanos en Slovakia, Rayamajhi *et al* 2008 encontraron el integrón clase I en 68.6 % de cepas de *Salmonella typhimurium* aisladas de cerdos en Korea, Lee *et al* 2009 encontraron el integrón clase I en 81.7% de cepas de *Salmonella choleraesuis* aisladas de humanos y animales en Taiwán, y Peirano *et al.*(2006), demostraron la presencia del integrón clase I en 40.74 % y del integrón II en 0.74 % de cepas de *Salmonella entérica* aisladas de humanos, animales y alimentos en Brasil.

Los integrones son considerados elementos genéticos que pueden integrar genes de resistencia en bacterias, y así estas generen multiresistencia. Se han encontrado relaciones entre multiresistencia y presencia de integrones clase I de un 71 % en Michoacán (Inocencio, 2011), un 66.66% en el Estado de México (Cordova 2008), un 20.33% (Lin-Thong y Modarressi, 2011). Estos valores altos nos

indican que sí hay relación entre la multiresistencia y la presencia de los integrones más que nada en los de clase I ya que estos son los que más se relacionan con la inserción de genes para resistencia a antibióticos (Cambray 2010).

El integrón clase I confiere resistencia principalmente a: aminoglucósidos como la gentamicina, amikacina, penicilinas como la ampicilina y la carbenicilina, cefalosporinas, trimetoprim/sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol. Mientras que el integrón clase 2 se presentó solamente en 2 cepas resistentes a cloranfenicol. El integrón clase II tiene la capacidad de portar genes con resistencia a antibióticos como son cloranfenicol, kanamicina, estreptomina, sulfadiacina, trimetoprim, mercurio, amonio cuaternario, tetraciclina y estreptomina (Córdova, 2008). Al observar los perfiles de resistencia por antimicrobiano y a los antibióticos a los que codifican principalmente los integrones clase I y II, nos damos cuenta de que la resistencia si correlaciona con la presencia de los integrones.

## Conclusiones

Los aislamientos de *Salmonella* fueron identificados bioquímica y molecularmente, encontrando un fragmento 378 pb el cual corresponde al gen de invasividad *invA*, el cual es característico de esta bacteria.

Las pruebas de serotipificación con antisueros somáticos (**O**) y flagelares (**H**), revelaron que el serotipo más frecuente en este tipo de aislamientos fue *Salmonella choleraesuis* con un 47 %.

Mediante el método Kirby-Bauer se observó que de las 185 cepas de *Salmonella* se presentó mayor resistencia para los antimicrobianos ampicilina, carbenicilina y cloranfenicol; 39.46%, 41% y 36% respectivamente. En cambio, para amikacina, ceftriaxona y netilmicina hubo un 100 % de sensibilidad.

El integrón clase I fue el más frecuente al encontrarse en 69 (37.29%), de los aislamientos mientras que el integrón clase II solamente en 2 (1.1%) aislamientos.

Se presentó multiresistencia antimicrobiana en 56 de 185 aislamientos, de las cuales 34 (62.96 %) presentaron el integrón clase I y ninguna presentó el integrón clase II. El integrón clase II solo se presentó en 2 cepas resistentes a 1 antibiótico.

El 100% de los aislamientos resistentes a

pefloxacilina (13/185) presentaron el integrón clase I, mientras que para carbenicilina para la cual hubo mayor cantidad de aislamientos resistentes (76/185), 41(53.94%) lo presentaron.

## Referencias

- Arcos-Ávila, E.C., Mora-Cardona, L. (2011). Determinación de la prevalencia y resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. en carne porcina y fómites de 6 plantas de beneficio y 14 expendios del departamento del Tolima, Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista, Universidad del Tolima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ibagué-Tolima, pp. 90.
- Cambray G., Sanchez-Alberola, N., Campoy, S., Guerin, É., Da-Re, S., González-Zorn, B., Ploy, MC., Barbé, J., Mazel, D., Erill, I. (2011). Prevalence of SOS-mediated control of integron integrase expression as an adaptive trait of chromosomal and mobile Integrons, <http://www.Mobilednajournal.com/content/2/1/6>
- Coque-González, M.T. (2005). Papel de los integrones en la resistencia a los agentes antimicrobianos, *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 23(5):251-3.
- Córdova, B.C. (2008). Estudio de la Resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella entérica*, serotipos Enteritidis, Typhi y Gallinarum, aisladas de aves y humanos (tesis de diplomado). México DF: Universidad Autónoma de México.
- Douadi, B., Lin-Thong, K., Watanabe, H., Devi-Puthuchear, S. (2010). Characterization of Drug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium by Antibigrams, Plasmids, Integrons, Resistance Genes, and PFGE, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20(6): 1042–1052.
- Inocencio, V. (2011). Resistencia a antibióticos y presencia de integrones en aislados de *Salmonella entérica* obtenidos de productos cárnicos y lácteos en el estado de Michoacán, tesis de Químico Farmacobiólogo, Universidad de Michoacán de San Nicolás Hidalgo, pp. 26.
- Khan, A., Ponce, E., Nawaz, M., Cheng, C., Khan, J., West, C. (2009). Identification and Characterization of Class 1 Integron Resistance Gene Cassettes among *Salmonella* Strains Isolated from Imported Seafood, *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4): 1192–1196.
- Lee, M.F., Chen, Y.H., Peng, C.F. (2009). Molecular characterisation of class 1 integrons in *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis isolates from southern Taiwan, *Int J Antimicrob Agents*. 33(3):216-22
- Lin-Thong, K., Modarressi, S. (2011). Antimicrobial resistant genes associated with *Salmonella* from retail meats and street foods, *Food Research international* 44: 2641-2646.
- López-Cuevas, O., León-Félix, J., Jiménez-Edeza, M., Chaidez-Quiroz, C. (2009). detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola, *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 32, núm. 2, Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C., México, pp. 119-126.
- Majtánová, L., Majtán, T., Majtán, V. (2010). Detection of the Class 1 Integrons and SGII among *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104, U302, DT120, DT193, and Nontypable Human Isolates, *Jpn. J. Infect. Dis.*, 63: 292-295.
- Mejia, W., Marquez, D.C., Zapata, D., Quintero, A., Sánchez, D., Mateu, E. (2008). Sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de salmonella aisladas en granjas porcinas del estado Zulia. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 18 (6): 674 – 681
- Pati, N., Vishwakarma, V., Selvaraj, S., Dash, S., Saha, B., Singh, N., Suar, M. (2013). *Salmonella Typhimurium* TTSS-2 deficient mig-14 mutant shows attenuation in immunocompromised mice and offers protection against wild-type *Salmonella Typhimurium* infection, *BMC Microbiology*, 13:236
- Peirano, G., Agersø, Y., Aarestrup, F.M., Falavindos-Reis, E.M., Prazeres-Rodrigues, D. (2006). Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among *Salmonella enterica* from Brazil, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58: 305–309
- Rayamajhi, N., Kang, S., Kang, M., Lee, H., Park, K., Yoo, H. (2008). Assessment of Antibiotic Resistance Phenotype and Integrons in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium Isolated from Swine, *J. Vet. Med. Sci.* 70(10): 1133–1137.