



SALMONELLA SPP. MULTIFÁRMACO VIRULENTO Y RESISTENTE RECUPERADO DE CANALES DE POLLO EN BRASIL

ARTÍCULO ORIGINAL

MELO, Nataly Sayonara da Silva¹, SILVA, Maria Goretti Varejão da², ALMEIDA, Anna Carolina Soares³, MEDEIROS, Anna Karolyne de Araujo⁴, SILVA, Daniel Dias da⁵, SOUZA, Paula Mariana Salgueiro de⁶, SILVA, Marcela Oliveira da⁷, SOARES, Anísio Francisco⁸, MENDONÇA, Marcelo⁹, MEDEIROS, Elizabeth Sampaio de¹⁰

MELO, Nataly Sayonara da Silva, *et al.* **Salmonella spp. Multifármaco virulento y resistente recuperado de canales de pollo en Brasil.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Año. 08, Ed. 04, Vol. 01, págs. 92-114. Abril 2023. ISSN: 2448-0959, Enlace de acceso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/biologia-es/multifarmaco-virulento>, DOI: 10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/biologia-es/multifarmaco-virulento

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de biofilm, el perfil de susceptibilidad y la detección de genes de resistencia presentes en aislados de *Salmonella* spp de canales frescas de pollo vendidas en una metrópoli brasileña. De un total de 61 muestras de canales frescas de aves de corral, 21 fueron positivas para la presencia de *Salmonella* spp. En cuanto a la prueba de sensibilidad antimicrobiana, (13/21) los aislamientos probados fueron resistentes a al menos un antibiótico, correspondiente al 61,9%, y el 38% (08/21) fueron resistentes a múltiples fármacos. Se identificaron al menos dos genes de resistencia en todos los aislamientos, especialmente los genes relacionados con la resistencia a β -lactamasas y quinolonas. También se observó que algunos aislados de *Salmonella* spp mostraron patrones genéticos idénticos. Y los 21 aislados fueron capaces de formar biopelícula. La identificación del biofilm de *Salmonella* spp. formando y portando diferentes genes de β -lactamasa y determinantes de resistencia a quinolonas demuestra la capacidad de estas bacterias para acumular diversos mecanismos de virulencia y resistencia a antimicrobianos. Por lo tanto, la propagación de diferentes grupos clonales de *Salmonella* spp. MDR en canales de carne de aves de corral expresada en este atestiguan la necesidad de controles



efectivos para contener este microorganismo, que además de ser un riesgo para la salud pública, también es responsable de considerables pérdidas económicas.

Palabra clave: Betalactámicos, Intoxicación alimentaria, PCR, Mercado público.

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad transmitida por los alimentos causada por cepas patógenas de *Salmonella* spp. Los casos de salmonelosis en humanos ocurren principalmente a través del consumo de alimentos o agua contaminados. En la mayoría de los casos, los alimentos de origen animal, especialmente los de aves de corral, son las principales fuentes de infecciones por *Salmonella* spp. Los síntomas de la infección entérica son náuseas, vómitos, diarrea no sanguinolenta, fiebre, resfriado, dolor abdominal, mialgia y dolores de cabeza, y en pacientes inmunodeprimidos puede provocar bacteriemia, endocarditis y muerte (GRIMONT y WEILL, 2007).

Según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), 1,2 millones de casos de infecciones, 23.000 hospitalizaciones y 450 muertes por año en los Estados Unidos de América son causados por *Salmonella* spp, aproximadamente. Y las infecciones relacionadas con la ingestión de alimentos contaminados representan aproximadamente 1.0 millones de casos (CDC, 2020). En Brasil, según el Ministerio de Salud, se notificaron un total de 12.660 casos de enfermedades transmitidas por los alimentos entre 2000 y 2017, y *Salmonella* spp. fue uno de los principales agentes notificados en estos casos, lo que representa un total del 35% de los casos notificados (BRASIL, 2019).

En la mayoría de los casos de salmonelosis, los individuos sanos no necesitan tratamiento. Sin embargo, los pacientes inmunodeprimidos necesitan pasar por tratamiento (SERENO *et al.*, 2017). Sin embargo, el uso indiscriminado de antimicrobianos, especialmente en la producción animal, ha llevado a un mayor número de microorganismos resistentes a los agentes terapéuticos, lo que lleva a



un número limitado de opciones antimicrobianas, lo que puede resultar en fracasos del tratamiento (ALEKSHUN y LEVY, 2007; PENG *et al.*, 2014). A lo largo de los años, ha habido un aumento en la prevalencia de *cepas de Salmonella* resistentes a múltiples medicamentos, principalmente en productos avícolas, como la carne de ave (AZEVEDO, 2014; BAPTISTA *et al.*, 2018; DUARTE *et al.*, 2009; FITCH *et al.*, 2016; BONI *et al.*, 2011; REZENDE *et al.*, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2007; THRELFALL, 2002).

Por lo tanto, la aparición de *Salmonella* multirresistente (MDR) es una preocupación mundial, debido al aumento de las tasas de hospitalización y muerte. Este fenómeno es consecuencia del uso extensivo de antibióticos por parte de los seres humanos, y también en la producción animal.

Además, las especies de *Salmonella* tienen la capacidad de formar biopelícula, donde los microorganismos celulares están incrustados en una matriz extracelular, por lo que estos microorganismos pueden adherirse a superficies bióticas o abióticas (DAVEY y O'TOOLE, 2000; FLEMMING *et al.*, 2016). Las matrices complejas de la biopelícula mantienen las células microbianas protegidas de la acción del proceso de saneamiento y los agentes antimicrobianos, por lo tanto, cuando los microorganismos patógenos están involucrados en la biopelícula, existe un gran riesgo de contaminar los alimentos, lo que conduce a un problema de salud pública. (KASNOWSKY *et al.*, 2010).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue caracterizar los determinantes de la resistencia a los antibióticos y evaluar la producción de biofilm en cepas de *Salmonella* spp. recuperadas de carne fresca de aves de corral vendida en una metrópoli brasileña.



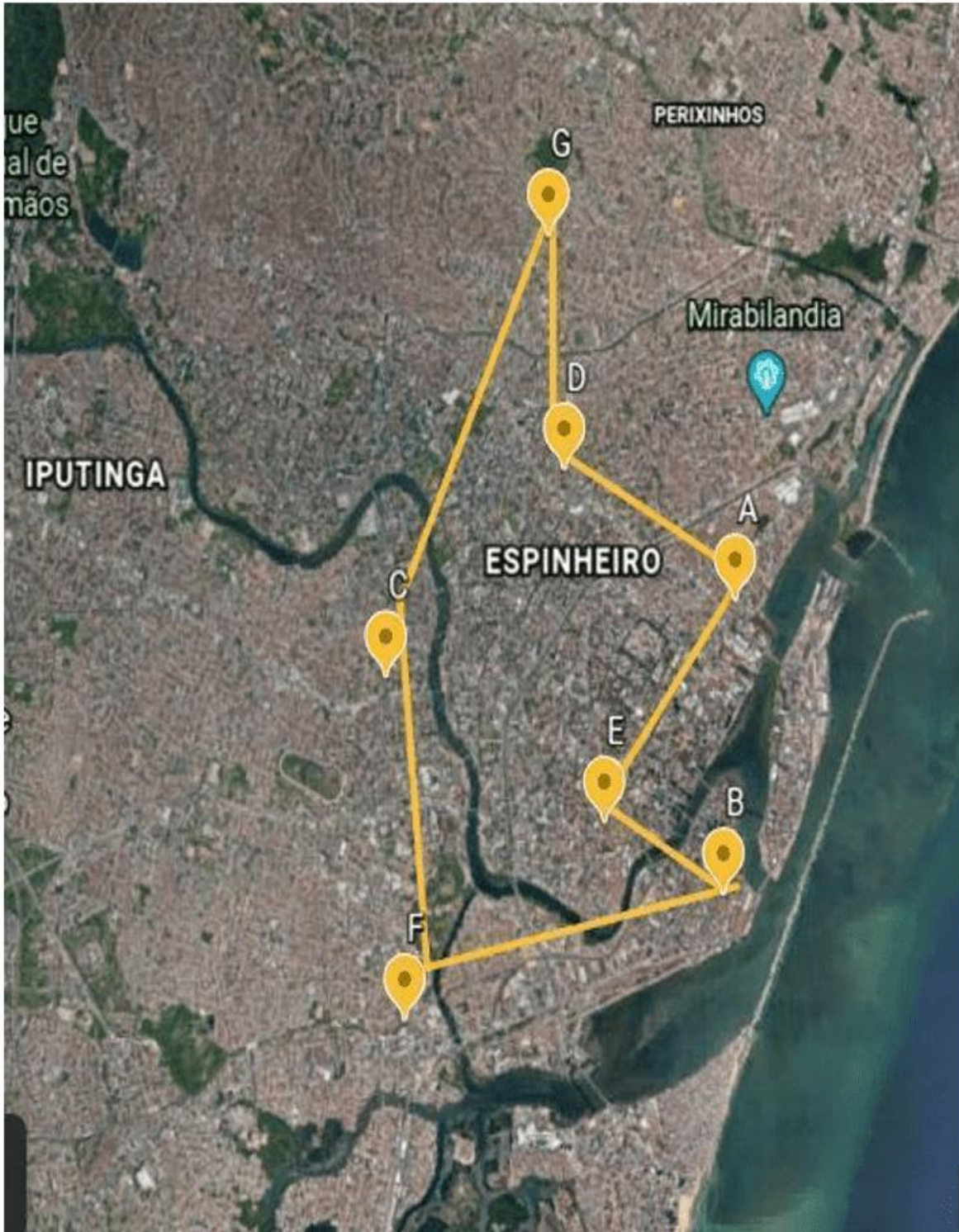
MÉTODOS

Muestreo e identificación de las canales de aves de corral

Se compraron un total de 61 canales de carne de aves de corral en 07 mercados públicos diferentes en la ciudad de Recife, en el estado de Pernambuco, Brasil, entre 2018 y 2019 (figura 1 y tabla 1). Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Inspección de Carnes y Leche (LICAL), del Departamento de Medicina Veterinaria de la *Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)*.

En el laboratorio, la superficie de cada paquete de canales de aves de corral se limpió con un 70 por ciento de alcohol. Luego, se tomaron al azar 25 g de las canales y se colocaron en bolsas estériles (*stomacher*) individuales con 225 ml de agua de peptona tamponada (Kasvi, Brasil), y se homogeneizaron en *stomacher* durante 2 min (Kasvi, Brasil) y se incubaron a 37 ° C durante 24 horas para la etapa de preenriquecimiento. Para la etapa de enriquecimiento, 0,1 ml del caldo preenriquecido se transfirieron a 10 ml de caldo de tetracionato (Merck e pais) y luego se incubaron a 41,5 ° C durante 24 horas, y 1,0 ml del caldo preenriquecido también se transfirieron a 10 ml de Rappaport y se incubaron a 37 ° C durante 24 horas para el enriquecimiento selectivo. Después de la incubación, un bucle de caldo TT y cultivos de Rappaport se rayaron en placas de agar xilosa lisina (XLD) (Kasvi, Brasil) y agar entérico Hektoen (HE) (Kasvi, Brasil) e incubadas a 37 ° C durante 24 h. Se seleccionaron tres presuntas colonias de *Salmonella* en las placas y se rayaron en agar nutriente (Merck, pais-) y se incubaron a 37,8 ° C durante 24 horas. Luego, las colonias del agar nutriente fueron sometidas a pruebas bioquímicas y serológicas (ISO, 657912017).

Figura 1: Mercados públicos donde se adquirieron las muestras



Fuente: Google Earth.



Tabla 1: Número de muestras adquiridas en diferentes mercados públicos de la ciudad de Recife – Pernambuco, Brasil

Mercado público	Muestras adquiridas
Un	1, 2, 3 22, 23, 24, 25, 26
B	4, 5, 6, 7, 8, 9, 27, 28, 29
C	30, 31, 32
D	10, 33, 34, 35, 36,
E	11, 37, 38, 39, 40, 41
F	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 45, 46,47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61
G	18, 20, 21, 42, 43, 44

Fuente: *Elaboración propia.*

Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos La prueba del perfil de susceptibilidad se realizó por el método de difusión del disco de agar con los siguientes agentes antimicrobianos: ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, ceftriaxona, sulfametoxazol-trimetoprima, imipenem, amoxicilina-ácido clavulánico, ceftazidima, cefotaxima y aztreonam, según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) (CLSI, 2018).

Detección de genes de resistencia

El ADN utilizado en los análisis moleculares se obtuvo a partir de suspensiones bacterianas formadas por colonias frescas, que previamente se cultivaron durante 16-18 horas en agar Luria Bertani e inocularon en aproximadamente 300 µL de agua ultrapura libre de nucleasa homogeneizada con la ayuda de un agitador de tubo de vórtice (*Vision Scientific*).

La investigación de genes para la resistencia a β -lactámicos y quinolonas se realizó mediante PCR. Las condiciones de ciclo térmico fueron las descritas por los autores enumerados en la tabla de cebadores.

Tabla 2: Cartillas utilizadas para detectar los genes de las β -lactamasas

Cebador		5' 3' Secuencias	Gen diana	Producto	Referencias
KPC	F	TGTCACTGTATCGCCGTC	<i>bla_{KPC}</i>	1011pb	(Bratu <i>et al.</i> , 2005)
	R	CTCAGTGCTCTACAGAAAACC			
CTX-M	F	SCSATGTGCAGYACCAGTAA	<i>bla_{CTXM}</i>	500pb	(Cao <i>et al.</i> , 2002)
	R	CCGCRATATGRTTGGTGGTG			
TEM	F	TCGGGGAAATGTGCGCG	<i>bla_{TEM}</i>	700pb	
	R	TGCTTAATCAGTGAGGCACC			
SHV	F	TTATCTCCCTGTTAGCCACC	<i>bla_{SHV}</i>	900pb	
	R	GATTTGCTGATTTGCTCGG			
	R	AAGCAGACTTGACCTGA			
qnrA	F	AGA GGA TTT CTC ACG CCA GG	<i>qnrA</i>	580pb	(Cattoir <i>et al.</i> , 2007).
	R	TGC CAG GCA CAG ATC TTG AC			
qnrB	F	GGM ATH GAA ATT CGC CAC T	<i>qnrB</i>	264pb	
	R	TTT GCY GYY CGC CAG TCG AA			
qnrC	F	GGG TTG TAC ATT TAT TGA ATC	<i>qnrC</i>	447PB	(Wang <i>et al.</i> , 2009)
	R	TCC ACT TTA CGA GGT TCT			
qnrD	F	CGA GAT CAA TTT ACG GGG AAT A	<i>qnrD</i>	582pb	(Cavaco <i>et al.</i> , 2009).

Fuente: Elaboración propia.

Análisis del perfil genético de los aislados La comparación e identificación de variaciones genéticas en el contenido de cepas bacterianas se realizó mediante ERIC-PCR. Los cebadores utilizados para la reacción fueron ERIC-1R (5' ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3') y ERIC2 (5'AAGTAAGTGAAGTGGGGGGGGCCG-3') (Sigma Aldrich) según (VERSALOVIC *et al.*, 1991), con la modificación descrita por (FENDRI *et al.*, 2013).

Capacidad de producción de biofilm



La capacidad de formación de biofilm se evaluó de acuerdo con la metodología propuesta por (STEPANOVIĆ *et al.*, 2000; STEPANOVIĆ *et al.*, 2007). Cada cepa se diluyó a 108UFC/ml (0,5 en la escala de MacFarland) utilizando caldo de tripticasa de soja (TSB) (Merck), y se cultivaron 200 µL en tres pocillos de la microplaca de poliestireno de fondo plano de 96 pocillos (Nest®). Se utilizaron un total de 69 pozos para probar 21 cepas; los otros 3 pocillos recibieron el *Salmonella* Typhimurim ATCC 14028 como control positivo, y 3 pocillos recibieron el control negativo (medio de cultivo no inoculado). Las placas que contenían cepas de *Salmonella* spp. y controles se incubaron a 35°C durante 96 horas. La placa se lavó tres veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS pH 7.2) y se tiñó con violeta cristalina al 1% durante 15 minutos. Después de lavar tres veces con agua destilada y secar a temperatura ambiente, la absorbancia se leyó en un lector de microplacas Polaris (Celer®) a una longitud de onda de 492 nm (SERENO *et al.*, 2017).

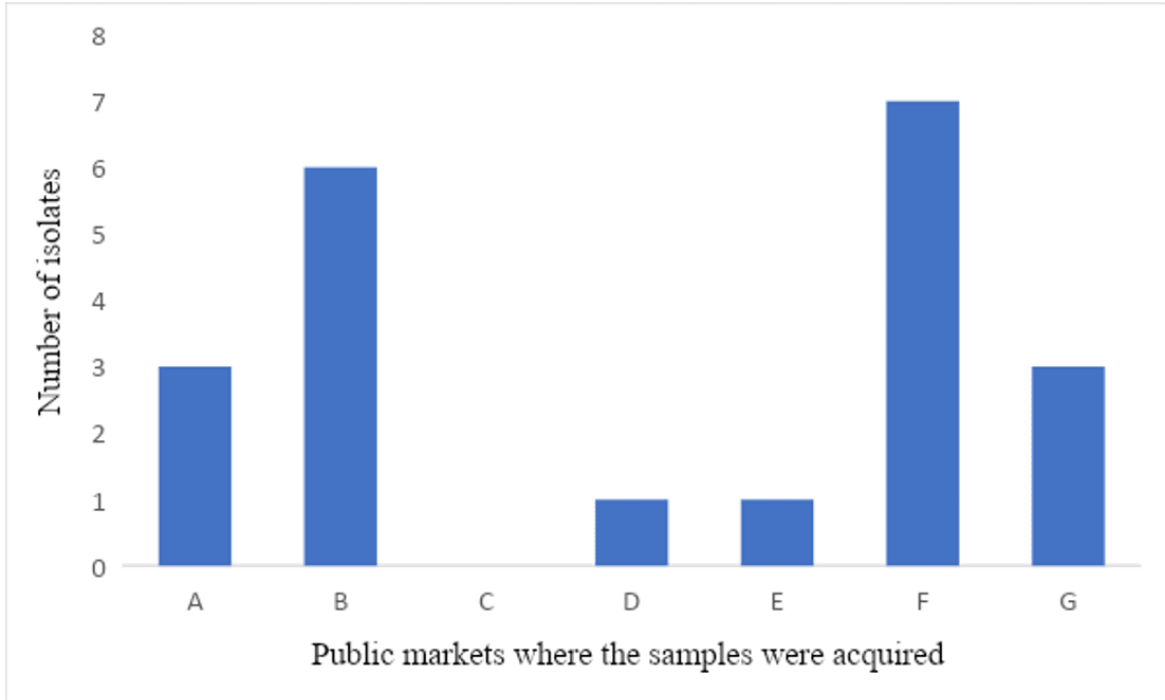
La densidad óptica (OD)[11] de cada cepa de *Salmonella* spp. se obtuvo por la media aritmética de la absorbancia de tres pocillos y este valor se comparó con la absorbancia media de los controles negativos (ODnc). Después de eso, las cepas se clasificaron en ningún productor de biofilm ($OD \leq OD_{nc}$); productor débil de biofilm ($OD_{nc} < OD_s \leq 2 \cdot OD_{nc}$); productor moderado de biofilm ($2 \cdot OD_{nc} < OD_s \leq 4 \cdot OD_{nc}$); y una fuerte clasificación de producción de biofilm ($4 \cdot OD_{nc} < OD_s$) dada de acuerdo con (STEPANOVIĆ *et al.*, 200; STEPANOVIĆ *et al.*, 2007).

RESULTADOS

Prevalencia de *Salmonella* spp. en muestras de canales de carne de aves de corral

De las 61 muestras de canales de carne de aves de corral recogidas en los mercados públicos, el 34% (21) estaban contaminadas por *Salmonella* spp. La prevalencia de *Salmonella* spp. en cada mercado público se expresa en la figura 3, y los datos se detallan en la tabla 3.

Figura 2: Prevalencia de aislados de *Salmonella* spp. de cada mercado público en la ciudad de Recife – Pernambuco, Brasil



Fuente: Autores.

Tabla 3: *Salmonella* spp. aislada de cada mercado público en la ciudad de Recife – Pernambuco, Brasil

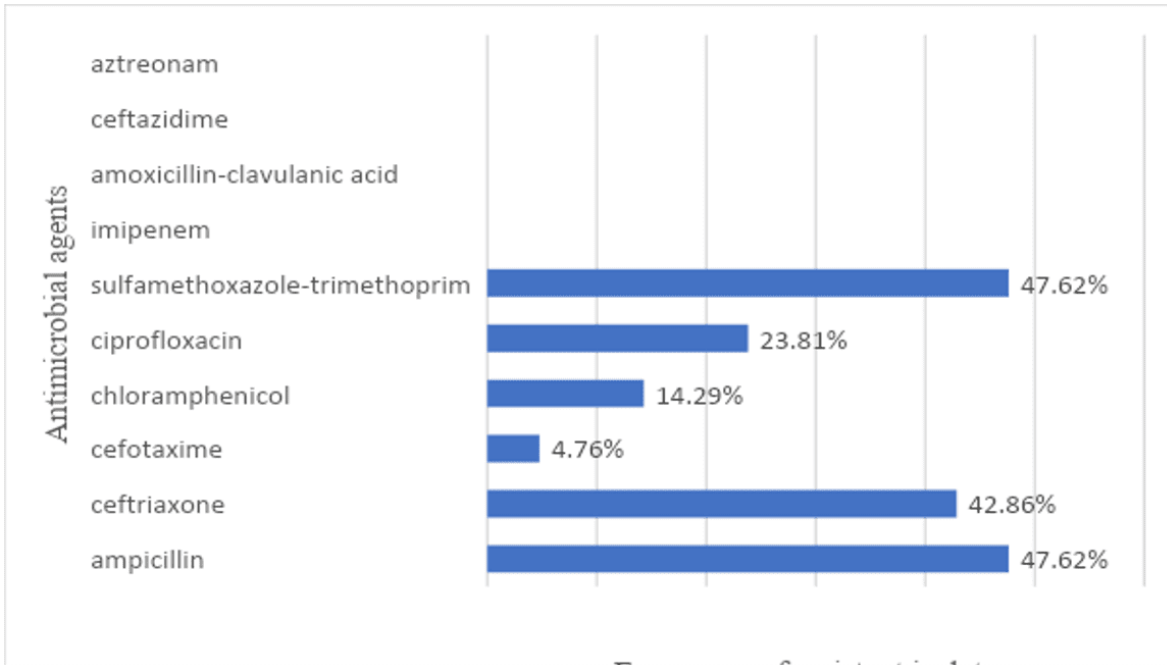
Aislantes	Mercado público	Año
1	Un	2018
2		2019
3		2019
4	B	2018
5		2018
6		2018
7		2018
8		2018
9		2018
10	D	2019



11	E	2019
12	F	2019
13		2019
14		2019
15		2019
16		2019
17		2019
18		2019
19	G	2018
20		2019
21		2019

Fuente: Elaboración propia.

Figura 3: Resistencia antimicrobiana a agentes antimicrobianos individuais entre aislados de *Salmonella* spp. de canales de aves de corral vendidas en mercados públicos en la ciudad de Recife – Brasil



Fuente: Autores.

Perfil de susceptibilidad

De los 21 aislados, 13 (61,9%) fueron resistentes a al menos un agente antimicrobiano. La resistencia antimicrobiana a agentes antimicrobianos individuales entre los aislados de *Salmonella* se expresa en la figura.3. Los datos detallados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana se expresan en la tabla 4.

Tabla 4. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de aislados de *canales* de pollo adquiridas en mercados públicos de la ciudad de Recife - PE, entre 2018 y 2019

Aislar	AMPERIO	AMC	CRO	CTX	CAZ	IPM	CAJERO	CLO	CIP	SUT
1	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R
2	S	S	S	S	S	S	S	S	Yo	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R



4	R	S	Yo	S	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S	S	S	Yo	S
6	S	S	Yo	S	S	S	S	S	R	S
7	S	S	Yo	S	S	S	S	S	Yo	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
9	S	S	Yo	S	S	S	S	S	Yo	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S	Yo	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S	Yo	S
12	R	S	R	S	S	S	S	S	Yo	R
13	R	S	R	S	S	S	S	S	Yo	R
14	S	S	S	S	S	S	S	S	Yo	S
15	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
16	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
17	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
18	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
21	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R

AMP - Ampicilina, CLO - cloranfenicol, CIP - ciprofloxacino, CRO - ceftriaxona, SUT - sulfametoxazol-trimetoprima, IPM - imipenem, AMC - amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ - ceftazidima, CTX - cefotaxima y ATM - Aztreonam, S - sensible; R- Resistente; Yo-. Intermedio. Fuente: Elaboración propia.

Se identificaron al menos dos genes de resistencia en todos los aislamientos, entre los cuales se observó la presencia de genes de resistencia que codifican β -lactamasas (bla) y genes de resistencia que codifican quinolonas (qnr) en las pruebas moleculares realizadas en el presente estudio, y los resultados se detallan en la tabla 3.



Tabla 5: Genes de resistencia detectados en cada aislado de *Salmonella* spp, recuperados de canales de aves adquiridas en mercados públicos de la ciudad de Recife - Pernambuco entre los años 2018 y 2019

Resistente a β -lactámicos					Resistentes a las quinolonas			
Aislantes	<i>Bla</i> _{TEM-like}	<i>Bla</i> _{SHV-like}	<i>Bla</i> _{CTX-M-like}	<i>Bla</i> _{KPC-2}	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrC</i>	<i>qnrD</i>
1	+	-	-	-	+	+	-	-
2	+	-	-	-	+	+	-	-
3	+	-	-	-	+	+	-	+
4	+	-	-	-	+	+	-	-
5	+	-	-	-	+	+	-	+
6	+	-	-	-	+	+	-	+
7	+	-	-	-	+	+	-	+
8	+	-	-	-	+	+	-	+
9	+	-	-	-	+	+	-	+
10	+	-	+	-	-	+	-	-
11	+	-	-	-	-	+	-	-
12	+	-	+	-	-	+	-	-
13	+	-	+	-	-	+	-	-
14	+	-	+	-	-	+	-	-
15	+	-	+	-	-	+	-	-
16	+	-	+	-	-	+	-	+
17	-	-	+	-	-	+	-	+
18	+	-	+	-	-	+	-	+
19	+	-	-	-	-	+	-	+
20	+	-	-	-	-	+	-	+
21	+	-	-	-	+	+	-	+

Fuente: Elaboración propia.

Relación clonal Los aislados mostraron un patrón que varió de 3 a 9 tiras, lo que reveló la presencia de diferentes genotipos patrón indistinguibles entre sí y otros cuyo estándar es diferente para sólo una o dos bandas. Algunos aislados de



Salmonella spp. mostraron patrones genéticos idénticos (2, 3, 4, 5, 6 y 7). Las muestras 9, 11, 19, 20 y 21 estaban estrechamente relacionadas genéticamente, ya que tienen un patrón similar de tiras, diferenciándose solo en una (9, 21) o dos tiras (11 y 20).

Formación de biofilm

Todos los 21 aislados de *Salmonella* spp. analizados eran productores de biofilms, y estos aislados se clasificaron como productores débiles de biofilm según (STEPANOVIĆ *et al.*, 2000; STEPANOVIĆ *et al.*, 2007).

DISCUSIÓN

Este trabajo identificó *Salmonella* spp. contaminando canales de pollo vendidas en mercados públicos en una metrópoli brasileña. Además, detectamos los mecanismos de resistencia presentes en estos aislados bacterianos y confirmamos que todos eran productores de biofilm. Los resultados que se presentan aquí mostraron varios aislados con una proximidad genética y revelaron que los otros son clones.

Los aislados 2, 3, 4 y 5 tienen un perfil genético idéntico, aunque se recolectaron en dos mercados diferentes, el Mercado A y el Mercado B, que están a unos 5 km de distancia entre sí. Este hallazgo indica que los vendedores pueden tener el mismo proveedor, donde comenzó la contaminación por *Salmonella* MDR. El mercado F presentó un mayor número de cepas caracterizadas como clones (12, 14, 15, 16 y 18). Además de la posibilidad del mismo proveedor, de acuerdo con un conjunto de fallas en las condiciones higiénicas, como la exposición de los productos al polvo y los insectos y el intercambio inadecuado de utensilios como cuchillos y contenedores entre los comerciantes, pueden contribuir a la contaminación de las canales, lo que resulta en la diseminación de aislados isogénicos (AZEVEDO, 2014).



La presencia de *Salmonella* spp. en la carne de aves de corral también se observó en los estudios realizados por (BAPTISTA *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2020; YIN *et al.*, 2021). Sin embargo, nuestros hallazgos difieren de estos estudios debido a la mayor prevalencia de aislados de *Salmonella* spp.

La contaminación por *Salmonella* spp. detectada en las muestras puede deberse a una contaminación previa en el propio matadero, debido a fallos en el proceso de sacrificio (LOPES *et al.*, 2007; VON RÜCKERT *et al.*, 2009). También se observó que los comerciantes retiraron los cadáveres del embalaje original y los colocaron en recipientes de plástico y luego los vendieron a temperatura ambiente (88 °F), lo que se considera un fraude. Esta temperatura promueve la multiplicación de *Salmonella* spp., ya que estos microorganismos pueden multiplicarse a temperaturas alrededor de 5 ° C a 45 ° C (MAHMOUD, 2012) Este problema relacionado con la temperatura también se notó en los estudios realizados por (KHAN *et al.*, 2018; JARQUIN *et al.*, 2015).

Por lo tanto, esta práctica aumenta el riesgo de contaminación del producto, principalmente debido a prácticas de manipulación inadecuadas y condiciones higiénicas sanitarias inadecuadas y a lo que se observa en estos mercados públicos, ya que se encontró que las mesas y bancos no se limpiaron en el 59% (36/61) de los lugares. En cuanto a los manipuladores, se observó que el 100% no tenía las uñas bien cortadas y limpias. Además, el mismo empleado que cuidaba la carne era el mismo en la caja. En consecuencia, estas fallas en los procesos de buenas prácticas de manejo observadas en estos mercados pueden contribuir a la contaminación y propagación de *Salmonella* spp. en este producto. Esta transferencia puede ocurrir entre varias interacciones entre el hombre, los alimentos y el medio ambiente. Por lo tanto, la contaminación cruzada es la base para la propagación de *Salmonella* spp.

A partir de los resultados de la prueba de susceptibilidad contra agentes antimicrobianos en el presente estudio, se observó que el 38% (08/21) de las cepas



de *Salmonella* spp eran resistentes a múltiples fármacos (MDR)[12], es decir, bacterias que son resistentes a al menos tres clases de agentes antimicrobianos (MAGIORAKOS *et al.*, 2011).

La aparición de cepas de *Salmonella* spp resistentes a múltiples antimicrobianos en carne de ave en Brasil es una realidad creciente, debido a los datos reportados en el presente estudio, y otras investigaciones realizadas por (ZIECH, 2015; BAPTISTA *et al.*, 2018). Puede suceder debido al uso intensivo de agentes antimicrobianos en la producción animal para tratar a los animales, y también para mejorar la producción.

La mayor implicación en cuanto a la diseminación de cepas zoonóticas multirresistentes está relacionada con fallos terapéuticos frente a varias condiciones, tanto en casos humanos como animales. Además, esta realidad conlleva pérdidas en los rebaños de animales, ya que cuando están presentes, estas cepas resistentes son difíciles de eliminar. La permanencia de cepas patógenas y multirresistentes en la producción avícola es aún más preocupante, ya que la densidad animal es mayor y, en consecuencia, hay una mayor propagación de los microorganismos en un período de tiempo más corto.

Se observó que sólo el 4,28% (03/21) de los aislamientos eran resistentes al cloranfenicol. Este resultado puede reflejar la prohibición del uso de este agente como agente terapéutico y promotor del crecimiento en la producción animal en Brasil (PACHECO-SILVA *et al.*, 2014).

Por otro lado, el 42,85% (09/21) de los aislados fueron resistentes a la ceftriaxona, cefalosporina de 3ª generación. El uso de este medicamento en la producción animal está prohibido en Brasil (MION *et al.*, 2014). Por lo tanto, este resultado indica que este medicamento u otros de la misma clase de antimicrobianos todavía se utilizan en la producción animal en Brasil.



Además, 42,85 (9/21) de los aislados fueron resistentes a tres o más fármacos antimicrobianos. Luego, al comparar el perfil resistente con los mercados, se observó que los aislados número 13, 15, 16, 17, 18, que eran resistentes a hasta tres medicamentos eran del mismo mercado público (mercado público F). Sugiere que puede haber habido contaminación cruzada en el mercado, o que estas canales de pollo pueden haber sufrido contaminación previa en el matadero de aves de corral.

Por lo tanto, la presencia de cepas MDR de *Salmonella* en el origen animal de la alimentación está aumentando en Brasil (BAPTISTA *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2020; VOSS-RECH *et al.*, 2015). Las infecciones relacionadas con cepas multirresistentes se asocian con una alta morbilidad y mortalidad, en comparación con las sensibles, ya que estos microorganismos representan una barrera en el tratamiento de enfermedades humanas y animales.

La presencia de tales genes de resistencia detectados en aislados de *Salmonella* spp. de alimentos de origen animal representa una seria amenaza para la salud pública, ya que la transmisión horizontal de genes de resistencia ocurre principalmente por plásmidos que codifican β -lactamasas (GYLES, 2008). Además, estos genes se consideran de origen comunitario y son comunes en entornos hospitalarios (SUN *et al.*, 2013). Así, la diseminación de cepas resistentes señala la importancia del control de *Salmonella* spp en la carne de ave (BORGES *et al.*, 2019; SIVASANKAR *et al.*, 2020).

La presencia de cepas formadoras de biofilm de *Salmonella* spp. observada en el presente estudio señala el riesgo que este hallazgo puede traer a la industria alimentaria y la salud pública. La capacidad de formar biopelícula protegió a los microorganismos dentro de la biopelícula y, por lo tanto, menos susceptibles a factores externos, como la acción de agentes antimicrobianos (ZIECH, 2015; SERENO *et al.*, 2017; BORGES *et al.*, 2018).



Además, las biopelículas promueven la permanencia de microorganismos patógenos y de deterioro, que causan enfermedades a los consumidores, y la depreciación del producto final debido a cambios físico-químicos y sensoriales (KASNOWSKY *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2017).

Finalmente, esta investigación mostró que la identificación de *Salmonella* spp. productora de biofilm y portadora de diferentes genes de β -lactamasa y determinantes de resistencia a quinolonas demuestra la capacidad de estas bacterias para acumular diversos mecanismos de virulencia y resistencia a antimicrobianos. La presión selectiva que ejerce el uso indiscriminado de antibióticos en la agricultura es un factor importante para la adquisición de diferentes mecanismos de resistencia y diseminación de estas cepas. Además, la propagación de diferentes grupos clonales de *Salmonella* spp. MDR, en canales de pollo, mostrada en este estudio atestigua la necesidad de controles efectivos para contener este microorganismo, que además de ser un riesgo para la salud pública, también es responsable de considerables pérdidas económicas.

APOYO FINANCIERO

Los autores agradecen a la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por la beca otorgada.

REFERENCIAS

ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, v. 128, n. 6, p. 1037–1050, 23 mar. 2007. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>. Accessed in: 02 mar. 2021.

AZEVEDO, S. M. M. **Farmacologia dos antibióticos beta-lactâmicos**. Porto, Portugal: Universidade Fernando Pessoa, 2014. Available from: <https://bdigital.ufp.pt/handle/10284/4412>. Accessed in: 02 mar. 2021.

BAPTISTA, D. Q. *et al.* Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 7, p. 1278–1285, jul. 2018.



Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5289>. Accessed in: 02 mar. 2021.

BORGES, K. A. *et al.* Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 71–76, jan. 2018. Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-4928>. Accessed in: 02 mar. 2021.

BORGES, K. A.; MARTELO, E. B.; DOS SANTOS, L. A.; FURIAN, T. Q.; CISCO, I. C.; MANTO, L.; DOS SANTOS, L. R. Detection and quantification of *Salmonella* spp. in poultry slaughterhouses of southern Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [S. l.], v. 13, n. 05, p. 455–460, 2019. DOI: 10.3855/jidc.11107. Available from: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/32053516>. Accessed in: 02 mar. 2021.

BRATU, S.; LANDMAN, D.; ALAM, M.; TOLENTINO, E.; QUALE, J. Detection of KPC Carbapenem-Hydrolyzing Enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 776–778, fev. 2005. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.776-778.2005>. Accessed in: 02 mar. 2021.

BRASIL. **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**. Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, 2019. Available from: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/ApresentacaoSurto-DTA—Fevereiro-2019.pdf>. Accessed in: 13 Aug. 2019.

BONI, H. F. K.; CARRIJO, A. S.; FASCINA, V. B. Detection of *Salmonella* spp. in broiler buildings and stuff of slaughterhouse in the central region of Mato Grosso do Sul. **R. bras. Saúde Prod. Anim.**, 2011. Available from: <http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1949>. Accessed in: 02 mar. 2021.

CAO, V.; LAMBERT, T.; NHU, D. Q.; LOAN, H. K.; HOANG, N. K.; ARLET, G.; COURVALIN, P. Distribution of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in Vietnam. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 12, p. 3739–3743, dez. 2002. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.46.12.3739-3743.2002>. Accessed in: 02 mar. 2021.

CATTOIR, V.; POIREL, L.; ROTIMI, V.; SOUSSY, C. J.; NORDMANN, P. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 2, p. 394–397, 1 ago. 2007. Available from: <https://doi.org/10.1093/jac/dkm204>. Accessed in: 02 mar. 2021.



CAVACO, L. M.; HASMAN, H.; XIA, S.; AARESTRUP, F. M. *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p. 603–608, fev. 2009. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.00997-08>. Accessed in: 02 mar. 2021.

CENTRES FOR DISEASES, CONTROL AND PREVENTION – CDC. *Salmonella*. **Centres For Diseases, Control And Prevention**, 2020. Available from: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. Accessed in: 02 mar. 2021.

DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G. A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 847–867, dez. 2000. Available from: <https://doi.org/10.1128/membr.64.4.847-867.2000>. Accessed in: 02 mar. 2021.

DUARTE, D. A. M. *et al.* Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 569–573, set. 2009. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000300020>. Accessed in: 02 mar. 2021.

FENDRI, I.; BEN HASSENA, A.; GROSSET, N.; BARKALLAH, M.; KHANNOUS, L.; CHUAT, V.; GAUTIER, M.; GDOURA, R. Genetic Diversity of Food-Isolated *Salmonella* Strains through Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus (ERIC-PCR). **PLOS ONE**, v. 8, n. 12, p. e81315, 3 dez. 2013. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081315>. Accessed in: 02 mar. 2021.

FITCH, F. M.; CARMO-RODRIGUES, M. S.; OLIVEIRA, V. G. S.; GASPARI, M. V.; DOS SANTOS, A.; DE FREITAS, J. B.; PIGNATARI, A. C. C. β -Lactam Resistance Genes: Characterization, Epidemiology, and First Detection of *bla*CTX-M-1 and *bla*CTX-M-14 in *Salmonella* spp. Isolated from Poultry in Brazil—Brazil Ministry of Agriculture's Pathogen Reduction Program. **Microbial Drug Resistance**, v. 22, n. 2, p. 164–171, 8 mar. 2016. Available from: <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0143>. Accessed in: 02 mar. 2021.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; SZEWZYK, U.; STEINBERG, P.; RICE, S. A.; KJELLEBERG, S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 563–575, 11 ago. 2016. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>. Accessed in: 02 mar. 2021.

GRIMONT, P.; WEILL, F. X. **Antigenic formulae of the *Salmonella* servovars: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella***. 9th Ed. Inst. Pasteur, 2007. 1–166 p.



GYLES, C. L. Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 2, p. 149–158, 2008. Available from: <https://doi.org/10.1017/S14662523080015522>. Accessed in: 02 mar. 2021.

JARQUIN, C.; ALVAREZ, D.; MORALES, O.; MORALES, A. J.; LÓPEZ, B.; DONADO, P.; VALENCIA, M. F.; ARÉVALO, A.; MUÑOZ, F.; WALLS, I.; DOYLE, M. P.; ALALI, W. Q. Salmonella on Raw Poultry in Retail Markets in Guatemala: Levels, Antibiotic Susceptibility, and Serovar Distribution. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 9, p. 1642–1650, set. 2015. Available from: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-117>. Accessed in: 02 mar. 2021.

KASNOWSKY, M. C. *et al.* Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 15, p. 1679–7353, jul. 2010. Available from: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/fxPTiYWerLkT9Si_2013-6-25-16-32-0.pdf. Accessed in: 02 mar. 2021.

KHAN, A. S.; GEORGES, K.; RAHAMAN, S.; ABDELA, W.; ADESIYUN, A. A. Prevalence and serotypes of Salmonella spp. on chickens sold at retail outlets in Trinidad. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202108, ago. 2018. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202108>. Accessed in: 02 mar. 2021.

LOPES, M.; GALHARDO, J. A.; DE OLIVEIRA, T.; TAMANINI, R.; SANCHES, F.; MULLER, E. Pesquisa de Salmonella spp. e microrganismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouro de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 465–476, 30 ago. 2007. Available from: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2007v28n3p465>. Accessed in: 02 mar. 2021.

MAGIORAKOS, A. P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M. E.; GISKE, C. G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J. F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LILJEQUIST, B.; PATERSON, D. L.; RICE, L. B.; STELLING, J.; STRUELENS, M. J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J. T.; MONNET, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21793988/>. Accessed in: 02 mar. 2021.

MAHMOUD, B. S. M. Salmonella – A Dangerous Foodborne Pathogen, **Nursing times**, 2012. Available from: <https://doi.org/10.1049/cm.1989.0039>. Accessed in: 02 mar. 2021.

MELO, R. T. *et al.* Salmonella Minnesota de origem avícola apresenta fatores de virulência e risco potencial aos humanos. **Arquivo Brasileiro de Medicina**



Veterinária e Zootecnia, v. 72, n. 4, p. 1353–1362, jul. 2020. Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10884>. Accessed in: 02 mar. 2021.

MION, L.; COLLA, F. L.; CISCO, I. C.; WEBBER, B.; DIEDRICH, L. N.; PILOTTO, F.; RODRIGUES, L. B.; NASCIMENTO, V. P. do; SANTOS, L. R. dos. Perfil de resistência a antimicrobianos por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, n. 1, p. 1–5, 2014. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289029240017>. Accessed in: 02 mar. 2021.

PACHECO-SILVA, É.; SOUZA, J. R. de; CALDAS, E. D. Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 111–122, 2014. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422014000100020>. Accessed in: 02 mar. 2021.

PENG, M.; SALAHEEN, S.; BISWAS, D. Animal Health: Global Antibiotic Issues. **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, p. 346–357, jan. 2014. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00187-X>. Accessed in: 02 mar. 2021.

REZENDE, C. S. M. e; MESQUITA, A. J. de; ANDRADE, M. A.; LINHARES, G. F. C.; MESQUITA, A. Q. de; MINAFRA, C. S. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 100, n. 555-556, p. 199-203, jul./dez. 2005. Available from: <http://repositorio.bc.ufg.br/handle/ri/12309>. Accessed in: 02 mar. 2021.

RIBEIRO, A. R. *et al.* *Salmonella* spp. in raw br

oiler parts: occurrence, antimicrobial resistance profile and phage typing of the *Salmonella* Enteritidis isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 296–299, abr. 2007. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200021>. Accessed in: 02 mar. 2021.

SERENO, M. *et al.* Antimicrobial Susceptibility and Biofilm Production by *Salmonella* sp. Strains Isolated from Frozen Poultry Carcasses. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 19, n. 1, p. 103–108, jan. 2017. Available from: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0268>. Accessed in: 02 mar. 2021.

SINGH, S.; SINGH, S. K.; CHOWDHURY, I.; SINGH, R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, n. 1, p. 53–62, mai. 2017. Available from: <https://doi.org/10.2174/1874285801711010053>. Accessed in: 02 mar. 2021.



SIVASANKAR, C.; JHA, N. K.; GHOSH, R.; SHETTY, P. H. Anti quorum sensing and anti virulence activity of tannic acid and it's potential to breach resistance in *Salmonella enterica* Typhi / Paratyphi A clinical isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, p. 103813, 1 jan. 2020. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103813>. Accessed in: 02 mar. 2021.

STEPANOVIĆ, S.; VUKOVIĆ, D.; DAKIĆ, I.; SAVIĆ, B.; ŠVABIĆ-VLAHOVIĆ, M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, n. 2, p. 175–179, 1 abr. 2000. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6). Accessed in: 02 mar. 2021.

STEPANOVIĆ, S.; VUKOVIĆ, D.; HOLA, V.; DI BONAVENTURA, G.; DJUKIĆ, S.; ĆIRKOVIĆ, I.; RUZICKA, F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica**, v. 115, n. 8, p. 891–899, 2007. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17696944/>. Accessed in: 02 mar. 2021.

SUN, D. D.; MA, X. X.; HU, J.; TIAN, Y.; PANG, L.; SHANG, H.; CUI, L. Z. Epidemiological and molecular characterization of community and hospital acquired *Staphylococcus aureus* strains prevailing in Shenyang, Northeastern China. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 682–690, 1 nov. 2013. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.02.007>. Accessed in: 02 mar. 2021.

THRELFALL, E. J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, n. 2, p. 141–148, 1 jun. 2002. Available from: <https://academic.oup.com/femsre/article/26/2/141/653178>. Accessed in: 02 mar. 2021.

VERSALOVIC, J.; KOEUTH, T.; LUPSKI, R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 24, p. 6823–6831, dez. 1991. Available from: <https://doi.org/10.1093/nar/19.24.6823>. Accessed in: 02 mar. 2021.

VOSS-RECH, D.; VAZ, C. S. L.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; LEO, J. A.; RODRIGUES, D. P.; BACK, A. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 433–441, 1 mar. 2015. Available from: <https://doi.org/10.3382/ps/peu081>. Accessed in: 02 mar. 2021.

VON RÜCKERT, D. A. S. *et al.* Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, n. 2, p. 326–330, abr. 2009. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000200007>. Accessed in: 02 mar. 2021.



WANG, M.; GUO, Q.; XU, X.; WANG, X.; YE, X.; WU, S.; HOOPER, D. C.; WANG, M. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 1892–1897, maio 2009. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.01400-08>. Accessed in: 02 mar. 2021.

YIN, X.; M'IKANATHA, N. M.; NYIRABAHIZI, E.; MCDERMOTT, P. F.; TATE, H. 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**, v. 342, p. 109044, 16 mar. 2021. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109044>. Accessed in: 02 mar. 2021.

ZIECH, R. E. **Caracterização de *Salmonella* sp. isolada de indústrias de aves baseada na formação de biofilmes, tolerância a sanitizantes e resistência a antimicrobianos**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Paraná. Palotina, 2015.

APÊNDICE - NOTA AL PIE

11. Optical Density (OD).

12. Microbial Drug Resistance (MDR).

Enviado: 27 de marzo de 2023.

Aprobado: 08 de abril de 2023.

¹ Estudante de doctorado del Programa de Posgrado en Biociencia Animal. ORCID: 0000-0003-0698-6125. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5170743479462841>.

² Estudante de doctorado del Programa de Posgrado en Biociencia Animal. ORCID: 0000-0001-9410-7631. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4532231119888940>.

³ Doctor en Genética. ORCID: 0000-0003-0698-6125. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4891800920829895>.

⁴ Licenciado en Veterinaria. ORCID: 0000-0001-9273-5204. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/8329028352662293>.

⁵ M.Sc. en Biociencia Animal. ORCID: 0000-0002-4913-8313. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4967459162060058>.

⁶ Máster en Biología Celular y Molecular Aplicada. ORCID: 0000-0001-7764-0573. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/6281410502740086>.



⁷ Licenciado en Ciencias Biológicas. ORCID: 0000-0001-7928-7435. CURRÍCULO LATTES:
<http://lattes.cnpq.br/9549169192404311>.

⁸ Doctor en Bioquímica y Fisiología, Máster en Fisiología, Biólogo. ORCID: 0000-0003-1493-7964.
CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/9044747136928972>.

⁹ Doctor. ORCID: 0000-0002-1993-0350.

¹⁰ Consejero. Doctor del Programa de Posgrado en Biociencia Animal. ORCID: 0000-0002-1289-2902. CURRÍCULO LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5998863169551704>.