

# Antibiotipo de cepas de *Listeria* aisladas de embutidos en Culiacán, Sinaloa, México

Castañeda-Ruelas, G.M<sup>1\*</sup> • Jiménez-Edeza, M<sup>1</sup> • Galván-Gordillo, S.V.<sup>2</sup>  
Herrera-López, V.M.<sup>2</sup> • Hernández-Pérez, C.F.<sup>2</sup>

*Palabras clave:* antibióticos, fenotipo, genotipo, resistencia, Listeriosis  
*Key words:* antibiotic, phenotype, genotype, resistance, Listeriosis

## Introducción

*Listeria monocytogenes* es una bacteria patógena responsable de la listeriosis, una enfermedad de transmisión alimentaria que representa un problema de salud pública. La Organización Mundial de la Salud estima una incidencia anual baja (0.1-11/106 habitantes) de casos de listeriosis (septicemias, meningitis, abortos o gastroenteritis). Pero, con una alta tasa de mortalidad que oscila de 20-30 % [1]. Los principales alimentos que participan como vehículos de transmisión del patógeno son los productos lácteos sin pasteurizar y productos cárnicos listos para el consumo [1].

La listeriosis no se considera una enfermedad de tipificación obligatoria en México. No obstante, cier-

tos reportes han notificado casos esporádicos de listeriosis y padecimientos asociados (meningitis e infecciones intestinales) [2]. Además, la contaminación de embutidos y lácteos sin pasteurizar por *L. monocytogenes* ha sido documentada [2]. Particularmente en México, la relación de la bacteria con los embutidos ha tomado especial atención debido a la prevalencia y el alto riesgo de adquirir al patógeno por este alimento [3]. Así mismo, el uso de antibióticos veterinarios (polipéptidos cíclicos, tetraciclinas, penicilinas, aminoglucósidos, estreptogaminas, sulfamidas, macrólidos y otros) para la crianza, engorda y salud del ganado ha favorecido la emergencia de la resistencia

1 Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Prolongación Josefa Ortiz de Domínguez S/N, Ciudad Universitaria, 80040, Culiacán, Sinaloa, México. Tel:+52(667)137860.

2 Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Carretera Federal México-Pachuca km 37.5, 55740, Municipio de Tecámac, Estado de México. Tel:+52(55)59051000.

\* gloria.ruelas@uas.edu.mx



antimicrobiana de los patógenos de transmisión alimentaria dificultando su control [4]. Dado esto, la resistencia antimicrobiana de estos aislados de *L. monocytogenes* resulta un tema que requiere ser explorado.

Las técnicas moleculares y fenotípicas son herramientas útiles para describir la biodiversidad de los microorganismos, ofreciendo la oportunidad de identificar los elementos moleculares y biotipos que determinan los clones circulantes [5,6]. El objetivo de este estudio fue explorar los genes que modulan la resistencia antimicrobiana y el antibiograma que presentan las cepas de *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* recuperadas de embutidos de marcas comercializada a nivel nacional.

## Metodología

### Colección de cepas de *Listeria*.

El estudio incluyó siete cepas de *Listeria* previamente aisladas de embutidos (jamón y salchicha) comercializados en Culiacán, Sinaloa, México en 2015: 4 cepas de *L. monocytogenes* y 3 cepas de *L. seeligeri*. Las cepas fueron aisladas de cuatro marcas de distribución nacional (Figura 1). Los datos de aislamiento se muestran en la Figura 1. Las cepas se reactivaron en caldo cerebro corazón (BD®, EUA) durante 20 h a  $35 \pm 2$  °C. La detección de las cepas se realizó mediante el cultivo en agar cromogénico ALOA® (Biomerieux, Francia) y agar Oxford. Las colonias con morfología característica en ambos agares fueron confirmadas mediante VITEK2® (Biomerieux, Francia). A partir de las cepas confirmadas, se extrajo el ADN, y se rea-

lizó la secuenciación (Illumina MiSeq®), ensamblaje (SPAdes® v3.11.1) y anotación (RAST® v1.073) de los genomas.

### Análisis in silico de resistencia antimicrobiana.

Para la identificación de los genes de resistencia antimicrobiana se utilizaron las siguientes herramientas bioinformáticas: AMRFinderPlus® (v3.10.14) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/antimicrobial-resistance/AMRFinder/>), y BIGSdb® (<https://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/>). Los datos se sometieron a un análisis multivariante (Minitab® V19.2020.2.0) para la generación de los clústeres.

### Prueba de susceptibilidad a antibióticos.

La susceptibilidad a los antibióticos de las cepas de *Listeria* se determinó mediante el método de difusión en disco mediante el procedimiento descrito por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio [6]. Brevemente, se tomaron alícuotas de 0.1 mL de una suspensión bacteriana (escala de McFarland 0.5) y se extendieron por duplicado en agar Müller Hinton (BD Bioxon®, México). Posteriormente, los discos de antibióticos (Oxoid®, Reino Unido) se colocaron sobre el agar inoculado y se incubaron a 37 °C por 24 h. La Tabla 2 muestra el panel de 13 antibióticos. Para la clasificación de las cepas como susceptibles, intermedios o resistentes se siguió las recomendaciones descritas por CLSI [7]. La cepa de *E. coli* ATCC 25922 se utilizó como cepa de referencia para verificar la precisión de los procedimientos de prueba.

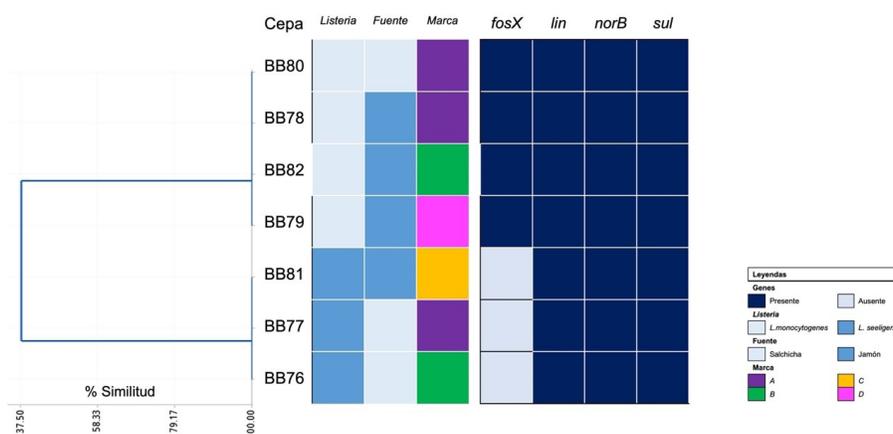


Figura 1. Genes de resistencia de las cepas de *Listeria* aislada de embutidos en México.

## Resultados y discusión

El genotipo de resistencia de las siete cepas de *Listeria* se ilustra en la Figura 1. El análisis *in silico* reveló que las cepas se clasificaron en dos patrones de genes de resistencia asociados a la especie: *L. monocytogenes* (*fosX*, *norB*, *mprF*, *lin* y *sul*) y *L. seeligeri* (*norB*, *mprF*, *lin* y *sul*).

En la Tabla 1 se muestra el fenotipo de la resistencia antimicrobiana. Brevemente, el 86 % (6/7) de las cepas presentaron resistencia al menos a 1 de los 13 antibióticos del panel evaluado. El 75 % y 100% de las cepas de *L. monocytogenes* y *L. seeligeri* se clasificaron como resistentes, respectivamente.

El principal fenotipo de resistencia fue a ácido nalidíxico y ceftazidima, cuyos mecanismos corresponden a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos y la inhibición de la biogénesis de la pared celular (Tabla 2) [8]. Algunos mecanismos de resistencia fueron coincidentes entre el fenotipo y genotipo de las cepas *L. monocytogenes* (Tabla 2).

Nuestros resultados exponen unos los primeros hallazgos de los elementos genéticos intrínsecos que median la resistencia en las especies del género *Liste-*

*ria*, y que particularmente mostraron asociación con las especies evaluadas. Los genes identificados se han descrito como factores implicados en la resistencia a fosfomicina (*fosX*), lincomicina (*lin*), quinolonas (*norB*) y sulfonamidas (*sul*) [5], cuyos mecanismos de acción refieren a la inhibición de la síntesis de proteínas, ADN y ácido fólico (Tabla 2) [8].

Previamente en México, los fenotipos de resistencia antimicrobiana de *L. monocytogenes* aislada de alimentos como salchichas, carne de res y pollo fue expuesta, y definida como una propiedad no estable y dependiente de la cepa y/o origen [6], como se observa en este estudio. Algunos estudios han evidenciado la presencia de residuos antimicrobianos en los productos cárnicos exponiendo el riesgo en la seguridad alimentaria [4]. La emergencia y dinamismo de la resistencia antimicrobiana de *L. monocytogenes* alertan casos de listeriosis dífiles de controlar. En este contexto, los genes de resistencia observados en las cepas de estudio corresponden a antibióticos que pueden ser empleados como tratamiento alternativo para la listeriosis [8].

**Tabla 1.** Fenotipo de la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Listeria*

Antibióticos	µg/mL	No. cepas (n=7)	% de cepas resistentes del género <i>Listeria</i>	
			<i>L. monocytogenes</i> (n=4)	<i>L. seeligeri</i> (n=3)
Ácido nalidíxico	30	6	75	100
Sulfitoxazol	0.25	3	25	67
Trimetoprim/Sulfametoxazol	25	0	0	0
Ceftazidima	30	6	75	100
Ampicilina	10	0	0	0
Amoxicilina/Ác. clavulánico	30	0	0	0
Cefoperazona	30	0	0	0
Neomicina	30	1	0	25
Gentamicina	10	1	0	25
Amikacina	30	0	0	0
Tetraciclina	30	0	0	0
Estreptomina	10	0	0	0
Cloranfenicol	30	0	0	0

**Tabla 2.** Mecanismos de resistencia de las cepas de *Listeria* aislada de embutidos en México.

Cepa	Especie	Fenotipo			Genotipo					
		NA <sub>30</sub>	S <sub>0.25</sub>	CAZ <sub>30</sub>	N <sub>30</sub>	GN <sub>10</sub>	<i>fosX</i>	<i>lin</i>	<i>norB</i>	<i>sul</i>
BB78	<i>L. monocytogenes</i>						■	■	■	■
BB79	<i>L. monocytogenes</i>	■		■			■	■	■	■
BB82	<i>L. monocytogenes</i>	■		■			■	■	■	■
BB80	<i>L. monocytogenes</i>	■	■	■			■	■	■	■
BB76	<i>L. seeligeri</i>	■	■	■			■	■	■	■
BB81	<i>L. seeligeri</i>	■	■	■			■	■	■	■
BB77	<i>L. seeligeri</i>	■		■	■	■	■	■	■	■

Panel de antibióticos: Ácido nalidíxico (NA<sub>30</sub>); Sulfitoxazol (S<sub>0.25</sub>); Ceftazidima (CAZ<sub>30</sub>); Neomicina (N<sub>30</sub>); Gentamicina (GN<sub>10</sub>). El subíndice de cada antibiótico indica su concentración (µg-µmL<sup>-1</sup>). Las cepas resistentes de *Listeria* se clasificaron de acuerdo con el mecanismo de acción de resistencia: inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos (■); inhibidores de la síntesis de ácido fólico (■); inhibidores de la síntesis de la pared celular (■), inhibidores de la síntesis de proteínas (■).

## Conclusión

El análisis bioinformático permitió definir el patrón de resistencia del género según la especie. No obstante, el fenotipo varió de acuerdo con la cepa evaluada. La resistencia antimicrobiana de las cepas de *L. monocytogenes* expone un problema de salud pública, y sugiere que los embutidos y sus marcas de origen podrían servir como fuente de transmisión y diseminación de la bacteria en el país. Por lo tanto, el uso adecuado de los antibióticos en la cadena de producción alimentaria son críticos para limitar la emergencia de la resistencia en el género.

## Reconocimientos

Este trabajo fue apoyado por la Convocatoria del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación PRO\_A7\_069 de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Agradecemos el apoyo técnico de secuenciación proporcionado por el Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes del SENASICA.

## Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Listeriosis. 2021. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>.
2. Castañeda-Ruelas G, Eslava-Campos C, Castro-del Campo N, et al. Listeriosis en México: importancia clínica y epidemiológica. *Salud Pública de México*. 2014.
3. Jiménez-Edeza M, Castillo-Burgos M, Germán-Báez LJ, et al. Venta a granel de embutidos: una tendencia de comercialización asociada al riesgo de enfermedades transmitidas por alimentos en Culiacán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2020. doi:10.22319/rmcp.v11i3.5274.
4. Pogurschi EN; Popa DC; Dragomir N, Dragotoiu T et al. Antibiotic use in livestock and residues in food—A public health threat: a review. 2022. *Foods*. doi.org/10.3390/foods11101430
5. Paradiso R, Riccardi MG, Cecere B, et al. Whole-genome sequencing-based characterization of a *Listeria monocytogenes* strain from an aborted water buffalo in Southern Italy. *Microorganisms*. 2021. doi:10.3390/microorganisms9091875
6. Castañeda-Ruelas GM, Castro-del Campo N, León J, et al. Prevalence, levels, and relatedness of *Listeria monocytogenes* isolated from raw and ready-to-eat foods at retail markets in Culiacán, Sinaloa, México. *Journal Microbiology Research*. 2013. doi:10.5923/j.microbiology.20130302.06
7. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Wayne, PA, EUA, 231 pp.
8. Olaimat AN, Al-Holy MA, Shahbaz HM, et al. Emergence of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from food products: a comprehensive review. *Comprehensive Review*. 2018. doi:10.1111/1541-4337.12387