

Presencia de integrones clase I en *Escherichia coli* aislada de productos cárnicos en plantas Tipo Inspección Federal (TIF) en el Estado de México

Presence of class I integrons in *Escherichia coli* isolated from meat products in Federal Inspection Type (TIF) plants in the Estado de Mexico

Raquel Fuentes Arriaga* Martín Talavera Rojas* Jesús Vázquez Navarrete**
Edgardo Soriano Vargas* Adriana Gutiérrez Castillo*

Abstract

Meat foods are the main vehicle of foodborne diseases as a result of poor handling during processing. The objective of this study was to determine the frequency and antibiotic resistance factors of *Escherichia coli* in TIF plants of the Estado de Mexico. For this, 3 Federal Inspection Type (TIF) plants in Mexico were analyzed, with $n = 90$ samples, 10 raw meat product (beef, pork and turkey meat), 10 finished meat product and 70 work tools. Eighteen (20%) *E. coli* strains were isolated (3 raw meat product, 2 finished meat products and 13 work tools ($P > 0.05$). The *E. coli* isolates showed high levels of resistance to ampicillin (88.8%), cephalothin (88.8%), carbenicillin (83.3%) and chloramphenicol (61.1%). There was a relationship between *E. coli* strains resistant to ampicillin and chloramphenicol and presence of resistance genes *Pse-1* 4/18 (22%) and *floR* 4/18 (22%). Five (55.5%) positive isolates to *Pse-1* and *floR*, also exhibit the *Cs3* *Cs5* genes for the class I integrons. The results indicate that antimicrobial resistance and genetic resistance factors are present in *Escherichia coli* isolated from food processing plants, suggesting that they can be transmitted to the intestine microbiota of human population by contamination and consumption of improperly processed products and become a risk factor for public health.

Key words: *ESCHERICHIA COLI*, INTEGRONS, ANTIBIOTIC MULTIRESTENCE.

Resumen

Los alimentos cárnicos constituyen uno de los principales vehículos de enfermedades transmitidas por alimentos, como consecuencia de un manejo deficiente durante su procesamiento. El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de algunos factores de resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en plantas Tipo Inspección Federal (TIF) del Estado de México. Para este fin se analizaron muestras de tres plantas TIF en el Estado de México ($n = 90$), 10 de materia prima (carne de bovino, cerdo y pavo), 10 de producto terminado y 70 de utensilios de trabajo. Se aislaron 18 (20%) cepas de *E. coli*, 3 de materia prima, 2 de producto terminado y 13 de utensilios de trabajo ($P > 0.05$). Las *E. coli* aisladas presentaron una frecuencia alta de resistencia a ampicilina (88.8%), cefalotina (88.8%), carbenicilina (83.3%) y cloranfenicol (61.1%). Se encontró una relación entre las cepas de *E. coli* resistentes a ampicilina y cloranfenicol y la presencia de genes de resistencia *Pse-1* 4/18 (22%) y *floR* 4/18 (22%). Cinco (55.5%) aislamientos positivos a *Pse-1* y *floR* también presentaron el *gen Cs3 Cs5* del integrón clase I. Los resultados indican que la resistencia antimicrobiana y los factores de resistencia genéticos están presentes en *Escherichia coli* aislada de plantas procesadoras de alimentos, lo que sugiere que estos elementos pueden transmitirse a la microbiota intestinal de la población humana a través de la contaminación y consumo de productos mal procesados, y ser un factor de riesgo para la salud pública.

Palabras clave: *ESCHERICHIA COLI*, INTEGRONES, MULTIRRESISTENCIA ANTIBIÓTICA.

Recibido el 11 de junio de 2011 y aceptado el 13 de noviembre de 2012.

*Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Panamericana Toluca-Atlaconulco Km 15.5, Toluca, 50200, México.

**Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. CENID. Microbiología Animal. Carretera México-Toluca Km 15.5, Palo Alto, 05110, Distrito Federal.

Responsable de correspondencia: Martín Talavera Rojas, teléfono/fax: 722 2965555, correo electrónico: mtr0035@yahoo.com.mx

Introducción

Resistance to antibiotics is a natural biological phenomenon due to mutations and the high capacity of bacteria to horizontally transfer their genetic material with a clear correlation between antibiotic use and bacterial resistance.¹ Enterobacteria throughout the world have shown high resistance to ampicillin, trimethoprim, sulfamethoxazole, tetracycline, chloramphenicol and nalidixic acid.² An important structure in the resistance mechanism are integrons, which are capable of obtaining genes that code for factors that determine resistance to antibiotics.³ Integrons are composed by three elements that are needed for insertion and expression of exogenous genes: a fragment that codes for an integrase (*intI*), an *attI* sequence to which genes join in cassette mode coding for various resistance mechanisms and within *intI*, at the 3' end, there is a promoter sequence (Pc) from which integrated resistance cassettes are transcribed.⁴ There are two groups of integrons: Group I, also known as "mobile integrons", can be found within plasmids and are related to sequences that code for resistance to antibiotics, and Group II or "superintegrons" which are present at the chromosome level and, in contrast to the former, are not related with resistance to antibiotics except in point exceptions.^{2,5} Due to the relationship between integrons and resistance to various antibiotic families, during the last years different prevalences have been recorded in enterobacteria.⁶ Given the recent increase in antibiotic resistant of *E. coli* and its impact in public health worldwide, it is important to carry out a study on microbial resistance and the presence of class I integrons in *E. coli* isolated from raw materials and meat products in TIF plants in the Estado de Mexico, in order to determine the behavior of genetic resistance in these strains.

Materials and Methods

A sampling by convenience was carried out in three Federal Inspection Type plants in the Estado de Mexico. Sample size was calculated using the methods published by SENASICA (method N60) that consists on obtaining 60 portions of meat product with 5 × 10 cm dimensions approximately until 500g in weight are obtained (this is considered a single sample).⁷ Three samplings were carried out in each TIF plant obtaining 4 from TIF A and 3 each from TIF B and C (10 samples from meat raw materials (bovine, swine and turkey), also 4 from TIF A and 3 each from TIF B and C (10 samples from finished product) and 28 from TIF A and 21 each from TIF B and C (70 samples from

Introducción

La resistencia antibiótica es un fenómeno biológico natural debido a las mutaciones y a la gran capacidad de las bacterias para transferir horizontalmente su material genético, por lo que existe una clara correlación entre el uso de antibióticos y la resistencia bacteriana.¹ En todo el mundo las enterobacterias presentan alta resistencia a la ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y ácido nalidíxico.² Una estructura importante en el mecanismo de resistencia son los integrones, los cuales son capaces de captar genes que codifican factores determinantes de resistencia antibiótica.³ Los integrones están compuestos por tres elementos necesarios para la inserción y expresión de genes exógenos: un fragmento que codifica una integrasa (*intI*), una secuencia *attI* a la que se unen los genes en casetes que codifican diferentes mecanismos de resistencia y dentro de la *intI*, en el extremo 3', una secuencia promotora (Pc) a partir de la cual se transcriben los casetes de resistencia integrados.⁴ Existen dos grupos de integrones: el Grupo I, también llamados "integrones móviles", se encuentran en plásmidos y están relacionados con secuencias que codifican la resistencia antibiótica, y el Grupo II o "superintegrones", presentes a nivel cromosómico, y a diferencia de los primeros, no están relacionados con la resistencia antibiótica, salvo algunas excepciones.^{2,5} Debido a la relación entre los integrones y la resistencia a diferentes familias de antibióticos, durante los últimos años se han registrado diversas prevalencias en enterobacterias.⁶ Dada la creciente resistencia antibiótica de *E. coli* y su actual impacto en salud pública en todo el mundo, es importante realizar un estudio sobre la resistencia microbiana y la presencia del integrón clase I en *E. coli*, a partir de materia prima y productos cárnicos en plantas TIF en el Estado de México, para conocer el comportamiento genético de la resistencia en estas cepas.

Material y métodos

Se realizó un muestreo por conveniencia en tres plantas Tipo Inspección Federal en el Estado de México; se obtuvo el tamaño de muestra de acuerdo con la metodología del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) (método N60), que consiste en calcular 60 porciones del producto cárnico con dimensiones aproximadas de 5 × 10 cm, hasta completar un peso de 500g (esto es considerado como una muestra).⁷ Se realizaron tres muestreos en cada planta TIF, obteniendo 4 del TIF A y 3 del TIF B y C (10 muestras de materia prima cárnica: bovino,

work utensils); n = 90. Samples from raw materials and finished product were collected as established in the Mexican Official Standard NOM-109-SSA-1994⁸; samples from work utensils were taken when products were being processed using the methods described by the European Union.¹ Samples were transported in refrigeration to the Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Autónoma del Estado de México. Samples from raw materials and finished product were previously incubated for 6 ± 2 h at 37°C and samples from work utensils for 24 ± 2 h at 37°C in 10% peptone broth, later in MacConkey's Agar and MacConkey Sorbitol Agar.^{*9} Suspected colonies were identified using routine biochemical tests.¹⁰ Resistance to antimicrobial agents was determined using Kirby-Bauer's technique following recommendations of the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).¹¹ Resistance to the following antibiotics was evaluated: amikacin (30 µg), ampicillin (10 µg), carbenicillin (100 mg) cephalothin (30 µg), cephalexin (30 µg), cephtriaxone (30 µg), chloramphenicol (30 µg), gentamycin (10 µg), nethilmycin (30 µg), nitrofurantoin (200 µg), pefloxacin (5 µg) and sulphamethoxazole-trimethoprim (25 µg).^{**} Readings were compared to standard interpretation tables following CLSI.^{11,12} Real-time PCR testing was carried out by extracting DNA using the Insta GeneTM Matrix commercial kit.^{***} Specific primer sequences (*Pse-1* and *floR*) and size of amplified fragments have been described by Chiu *et al.*,¹² and Cordova¹³ (Table 1). Total PCR volume was 25 µl consisting of: 2 µl DNA, 0.6 ml each oligonucleotide, 12.5 µl Master Mix Kit, 1 µl SYBR®Green 1X† and 8.3 µl H₂O. Samples were run under the following conditions: initial denaturing at 95°C for 5 minutes followed by 35 cycles of denaturing at 95°C for 5 minutes, aligning at 58°C for 1 minute and extension at 72°C for 1 minute and final extension at 72°C for 5 min. PCR reaction for identification of the class I integron was done in 25 µl total volume using: 2 µl DNA, 0.6ml each oligonucleotide (*Cs3Cs5*), 12.5 µl Master Mix Kit 1 µl SYBR®Green 1X† and 8.3 µl H₂O. Samples were run under the following conditions: initial denaturing at 94°C for 3 minutes followed by 35 cycles of denaturing at 94°C for 40 seconds, aligning at 58°C for 40 seconds and extension at 75°C for 40 seconds, and a final extension at 75°C for 7 minutes.¹³ Results were analyzed using a chi square test at a 95% confidence level.¹⁴

Results

A total of 18 (20%) *E. coli* isolates were obtained from the total samples analyzed (n = 90). From the 10 raw

porcino y pavo, de la misma manera se obtuvieron 4 del TIF A y 3 del TIF B y C (10 muestras de producto terminado) y 28 del TIF A y 21 del TIF B y C (70 muestras de utensilios de trabajo) n = 90. Las muestras de materia prima y producto terminado se tomaron conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA-1994,⁸ la muestra de los utensilios de trabajo se tomó durante el proceso de los productos y se utilizó el método descrito por la Unión Europea.¹ Las muestras fueron transportadas en refrigeración al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Las muestras de materia prima y producto terminado se incubaron previamente 6 ± 2 h a 37°C y las muestras de utensilios de trabajo, 24 ± 2 h a 37°C en caldo peptonado al 10 % y posteriormente en Agar MacConkey y Agar MacConkey Sorbitol.^{*9} Las colonias sospechosas se identificaron con pruebas bioquímicas de rutina.¹⁰ La resistencia a los agentes antimicrobianos se determinó mediante la técnica de Kirby-Bauer de acuerdo con el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).¹¹ Se evaluó la resistencia a los siguientes antibióticos: amikacina (30 µg), ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), carbenicilina (100 mg) cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), netilmicina (30 µg), nitrofurantoina (300 µg), pefloxacina (5 µg) y trimetropim-sulfametoxazol (25 µg).^{**} Las lecturas se compararon con las tablas de interpretación de acuerdo con el CLSI.^{11,12} Para la prueba de PCR en tiempo real se realizó la extracción de ADN utilizando un paquete comercial Insta GeneTM Matrix,^{***} la base de secuencias y el tamaño previsto de la amplificación para los oligonucleótidos específicos (*Pse-1* y *floR*) utilizados fueron señalados por Chiu *et al.*,¹² y Córdoba¹³ (Cuadro 1). Se realizó un PCR en tiempo real utilizando un volumen total de 25 µl que consistió en: 2 µl de ADN, 0.6 ml de cada oligonucleótido, 12.5 µl de Master Mix Kit, 1 µl SYBR®Green 1 X† y 8.3 µl de H₂O. Las reacciones se sometieron a las siguientes condiciones: desnaturalización inicial de 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 5 minutos de desnaturalización, 58°C por 1 minuto de alineación y 72°C durante 1 minuto de síntesis de ADN y extensión final a 72°C por 5 min. La reacción de la PCR para la identificación del integrón clase I se realizó con 25 µl como volumen total, utilizando: 2 µl de ADN, 0.6 ml del oligonucleótido (*Cs3Cs5*) 12.5 µl de Master Mix, 1 µl SYBR®Green 1 X† y 8.3 µl de H₂O. La reacción se sometió a las siguientes temperaturas:

*SMAC Becton Dickinson. Heidelberg, Alemania.

**Sensidiscos, Gram Negativos BIO-RAD. Hercules, California, Estados Unidos de América

***InstageneTM Matrix (Bio-Rad). Hercules, California, Estados Unidos de América.

†Applied Biosystems, Estados Unidos de América

material samples 3 (33.3%) resulted in isolates and from the 10 finished product samples 2 (20%) resulted in positive isolates. Furthermore, of the 70 samples from work utensils, 13 (18.57%) resulted in positive isolates.

Frequency of resistance to ampicillin was 88%, 83.3% to cephalothin, 72.2% to carbenicillin and 61.1% to chloramphenicol.

All strains that had the *Pse-I* and *floR* were resistant to ampicillin and chloramphenicol, respectively. Frequency of the *Pse-I* and *floR* genes and integron I (*Cs3Cs5*) reached 27.7% each one. A single isolate (5.5%) had both resistance genes (*Pse-I* and *floR*).

Of the five isolates that were positive to *Cs3Cs5*, four had the *Pse-I* gene (80%), two were positive for the *floR* gene (40%) and only one (20%) had both genes (Table 2, Figures 1-3)

Discussion

The frequency of *Escherichia coli* obtained in this study reached 20%. A study carried out on raw minced meat in the USA found 0.5% of *E. coli* O157:H7 in federally inspected plants.¹⁵ Isolates were grown in MacConkey Sorbitol agar in this study, in order to identify *Escherichia coli* O157:H7; nevertheless, none of this specific serotype could be found. Byrne *et al.*,¹⁶ recorded 4.9% prevalence in meat packing plants in the USA, although prevalence ranging between 0.1 and 54% has been reported pointing towards the existence of different factors within meat processing that intervene in the isolation of *E. coli*. Studies carried out in municipal slaughterhouses in the Estado de Mexico, found 2.6% prevalence of *E. coli* O157:H7;^{10,17} in contrast with this study in which it was not found, possibly indicating that the good manufacturing practices and the Standard

amplificación inicial de 3 minutos a 94°C y 35 ciclos de 94°C durante 40 segundos de desnaturalización, 58°C durante 40 segundos de alineación y 75°C durante 40 segundos de síntesis de ADN y un ciclo final de 75°C durante 7 minutos.¹³ Los resultados fueron evaluados por medio de la prueba de ji cuadrada con un intervalo de confianza de 95%.¹⁴

Resultados

Del total de muestras analizadas (n = 90) se obtuvieron 18 (20%) aislamientos de *E. coli*. De las 10 muestras analizadas de materia prima se obtuvieron 3 (33.3%) aislamientos y de las 10 muestras de producto terminado se obtuvieron 2 (20%) aislamientos positivos. Por otra parte, de los 70 utensilios de trabajo analizados se obtuvieron 13 (18.57%) aislamientos positivos.

La frecuencia de resistencia para ampicilina fue de 88.8%, para cefalotina 83.3%, para carbencilina 72.2% y para cloranfenicol 61.1%.

Todas las cepas que presentaron el gen *Pse-I* y *floR* fueron resistentes a la ampicilina y cloranfenicol, respectivamente. La frecuencia de genes *Pse-I*, *floR* y el integrón I (*Cs3Cs5*) fue de 27.7 % para cada uno de ellos. Un aislamiento (5.5%) presentó ambos genes (*Pse-I* y *floR*).

De los 5 aislamientos positivos a *Cs3Cs5*, 4 presentaron el gen *Pse-I* (80%), 2 fueron positivos al gen *floR* (40%) y sólo 1 (20%) presentó ambos genes (Cuadro 2, Figuras 1-3).

Discusión

La frecuencia de *Escherichia coli* obtenida en este estudio fue de 20%. En un estudio realizado en muestras de

CUADRO 1

Secuencia de oligonucleótidos utilizados para determinar los genes *Pse-I*, *floR* y *Cs3Cs5*
Sequence of oligonucleotides used for determining the presence of the *Pse-I*, *floR* and *Cs3Cs5* genes

Gene	Primer	Oligonucleotide sequence (5'-3')	Fragment size (bp)	Reference
Pse	<i>Pse-I</i>	GGCAATCACAACCTCGATGATGCGT GGCTCAATACGGTCTAGACGAGT	156	Chiu <i>et al.</i> ¹²
Flor	<i>floR</i>	CTTTGGCTATACTGGCGATG GATCATTACAAGCGCGACAG	266	Chiu <i>et al.</i> ¹²
CsCs	<i>Cs3Cs5</i>	⁵ GGC ATC CAA GCA GCA AG ³ ³ AAG CAG ACT TGA CCT ⁵	1196	Cordova ¹³

Sanitary Operation Procedures (SSOP) implemented in TIF plants significantly reduces the presence of *E. coli*. Notwithstanding this, the presence of said agent is a risk to product safety due to the resistance to antibiotics which it has. Due to this, resistance to antibiotics of *E. coli* is an emerging issue worldwide since high percentages of resistance to ampicillin, trimethoprim-sulphamethoxazole, tetracycline, chloramphenicol and nalidixic acid have been reported.² Our study found resistance to four antibiotics (ampicillin, carbenicillin, cephalothin and chloramphenicol) in agreement with the report by Reyes,¹⁰ who recorded resistance rates of 25% to ampicillin, 75% to cephalothin, and 62.5% to carbenicillin by *E. coli* O157:H7

carne cruda picada en Estados Unidos de América se encontró 0.5% de *E. coli* O157:H7, en plantas con inspección federal.¹⁵ En este trabajo se realizó el aislamiento en medio MacConkey Sorbitol para tratar de identificar *Escherichia coli* O157:H7; sin embargo, no se encontró ninguna cepa de este serotipo. Byrne *et al.*¹⁶ registraron una prevalencia de 4.9% en plantas empacadoras en Estados Unidos de América, aunque también se han mencionado prevalencias que van de 0.1 a 54%, por lo que se puede considerar que hay diferentes factores dentro de los procesos de obtención de cárnicos que intervienen en el aislamiento de *E. coli*. En estudios realizados en rastros municipales del Estado de México se registró una prevalencia de 2.6% para *E. coli* O157:H7,^{10,17}

CUADRO 2

Características de los aislamientos de *E. coli* obtenidos en las plantas TIF en el Estado de México
Characteristics of the *E. coli* isolates obtained in TIF plants in the Estado de Mexico

Strain number	TIF Num.	Origin	Gene			Resistance to antibiotics			
			<i>Pse-1</i>	<i>floR</i>	<i>Cs3Cs5</i>	<i>Ampicillin</i>	<i>Carbenicillin</i>	<i>Cephalothin</i>	<i>Chloramphenicol</i>
1	A	Raw material cart	-	+	-	+	+	+	+
2	A	Raw material	-	+	+	+	+	+	+
3	A	Finished product cart	-	+	-	+	+	+	+
4	A	Hand	+	+	+	+	+	+	+
5	A	Table	-	+	-	+	+	+	+
6	B	Grinder	+	-	+	+	+	+	+
7	C	Raw material cart	+	-	-	+	+	+	+
8	C	Sterilizer	+	-	+	+	+	+	+
9	C	Table	+	-	+	+	+	+	+
11	A	Sterilizer	-	-	-	+	+	+	+
12	A	Finished product cart	-	-	-	+	+	+	+
13	A	Raw material	-	-	-	+	-	+	-
14	B	Finished product	-	-	-	-	-	-	-
15	B	Table	-	-	-	-	-	-	-
16	C	Raw material	-	-	-	+	+	+	-
17	C	Finished product cart	-	-	-	+	-	-	-
18	C	Raw material cart	-	-	-	+	+	+	-
20	C	Finished product	-	-	-	+	+	+	-
Total			5	5	5	16	13	15	11

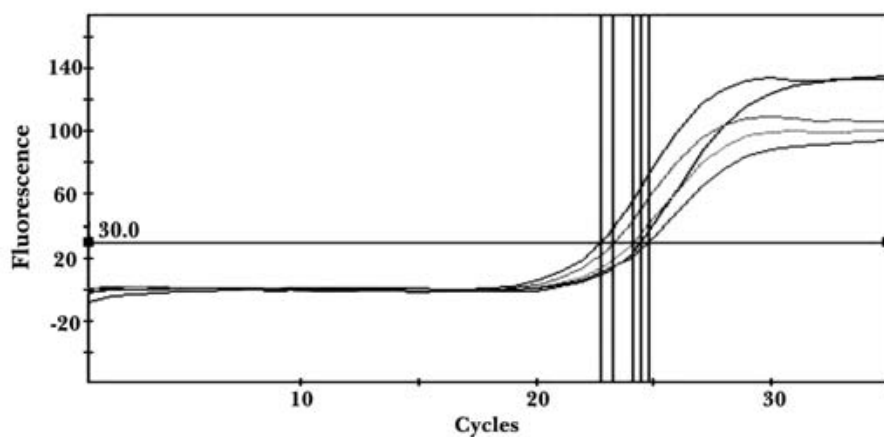


FIGURA 1. Gráfica del PCR tiempo real para la identificación del gen *floR* de *E. coli* aislamientos: 1, 2, 3, 4 y 5.

FIGURE 1. Real-time PCR graph of the *floR* gene identification from *E. coli* isolates: 1, 2, 3, 4 and 5.

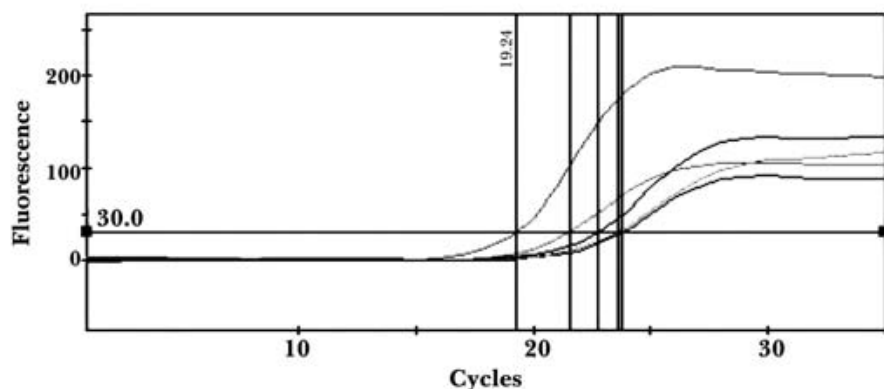


FIGURA 2. Gráfica del PCR tiempo real para la identificación del gen *Pse-I* de *E. coli* aislamientos: 5, 6, 7, 8 y 9.

FIGURE 2. Real-time PCR graph of the *Pse-I* gene identification from *E. coli* isolates: 5, 6, 7, 8 and 9.

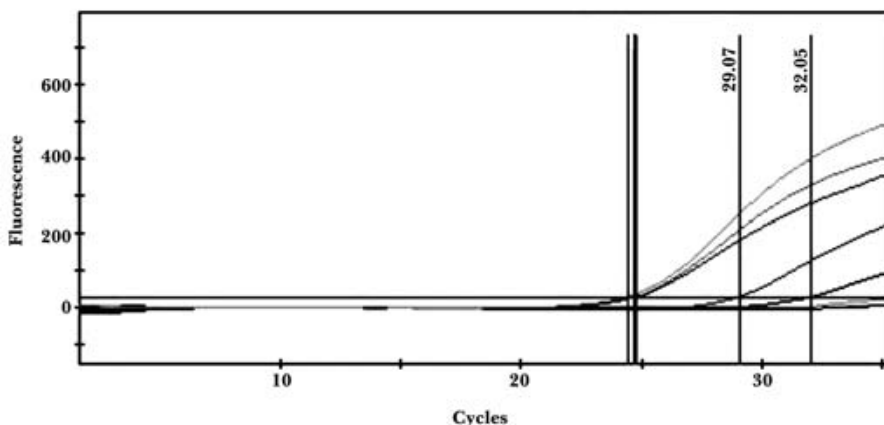


FIGURA 3. Gráfica del PCR tiempo real para la identificación de integrones clase I (gen *Cs3Cs5*) de *E. coli*, aislamientos: 2, 4, 6, 8 y 9.

FIGURE 3. Real-time PCR graph of the class I integron (*Cs3Cs5* gene) identification from *E. coli* isolates: 2, 4, 6, 8 and 9.

isolated from samples taken from bovine carcasses in municipal establishments. Ratnam *et al.*,¹⁷ indicate that of 174 *E. coli* O157:H7 isolates obtained from bovine carcasses, 0.6% were resistant to ampicillin, carbenicillin and tetracycline. Ji-Yeon *et al.*¹⁸ state that of the isolates found from swine and cattle in Korea and the United States of America, 100% were resistant to erythromycin, 27.2% to ampicillin, 18.2% to cephalothin as well as tetracycline. Several authors have recorded the resistance to chloramphenicol of up to 91% of *E. coli* isolated in European, Asian and North American

sin embargo, y como se mencionó anteriormente, este serotipo no se encontró en el presente estudio, lo que puede indicar que las buenas prácticas de manufactura y los Procedimientos Operativos Estándares de Sanitización (POES) implementados en las plantas TIF reducen significativamente la presencia de *E. coli*; a pesar de ello, la presencia de este agente supone un riesgo a la inocuidad del producto, dada la resistencia antibiótica que presenta. Por esta razón, la resistencia antibiótica de *E. coli* representa un problema emergente en todo el mundo, ya que se han registrado altos porcentajes de re-

countries.¹⁹⁻²³ Resistance to the aforementioned antibiotics is similar to other studies carried out in the Estado de Mexico, as well as Asian, European and North American countries, suggesting dynamic horizontal transmission of genetic material in animal populations from the production stage up to the manufacturing of animal origin products and byproducts. *E. coli* isolates that had resistance to ampicillin and chloramphenicol also had the *Pse-1* and *floR* genes, which agrees with the report by Varela,²⁴ who found a 73.68% relationship between resistance to ampicillin and the presence of the *Pse-1* in *Salmonella* spp. In terms of resistance to chloramphenicol, studies carried out in Peru by Mosquito *et al.*,² suggest that it can be mediated or related to genes such as *cmlA* and *floR*.² Furthermore, a study carried out in Mozambique with *Shigella* and *Salmonella* found that the mechanisms of resistance to chloramphenicol were related to the presence of *CAT* (89 and 67 %), *cmlA* (2 and 33 %) and *floR* (0 and 83 %), respectively.²⁵ In this study, a correspondence between isolates that had the *Pse-1* and *floR* resistance genes with the presence of class I integrons was found, which in turn are related with the cassettes for resistance to Beta-lactams and other antibiotics. It was found that 5 of the 10 (50%) isolates that had the *Pse-1* and *floR* genes also had the *Cs3Cs5* gene coinciding with the findings in Peru with *E. coli* isolates that were multiresistant and had class I integron.

These results suggest that resistance to antibiotics and the transfer of genetic material could be due to the inadequate use of antibiotics, which represents a public health risk and highlights the need for a permanent surveillance of their use in order to determine the presence and prevalence of resistant strains in meat food products.²⁶

Referencias

1. OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITY L165/48. European Directive 2001/471/EC.
2. MOSQUITO S, RUIZ J, BAUER JL, OCHOA TJ. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2011; 28:648-656.
3. DI CONZA JA, GUTKIND GO. Integrons: gene collectors. Rev Argent Microbiol 2010; 42:63-78.
4. SABATE M, GUILLEM P. Estructura y función de los integrones. Enfer Infecc Microbiol Clin 2002; 20:341-345.
5. FALLAH F, KARIMI A, GOUDARZI M, SHIVA F, NAVIDINIA M, HADIPOR JAHROMI M *et al.* Determination of integron frequency by a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method in multidrug-resistant *Escherichia coli* which causes urinary tract infections. Microb Drug Resist 2012; 2020.

sistencia hacia ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol y ácido nalidíxico.² En este estudio se encontró resistencia a cuatro antibióticos (ampicilina, carbencilina, cefalotina y cloranfenicol), lo que coincide con lo referido por Reyes,¹⁰ quien registra una resistencia a ampicilina 25%, cefalotina 75% y carbencilina 62.5%, en aislamientos de *E. coli* O157:H7 a partir de muestras tomadas de canales de bovinos en establecimientos municipales. Ratnam *et al.*¹⁷ indican que de 174 aislamientos estudiados de *E. coli* O157:H7 a partir de canales de bovinos, 0.6% fue resistente a la ampicilina, carbencilina y la tetraciclina. Ji-Yeon *et al.*¹⁸ mencionan que de los aislamientos encontrados en un estudio en cerdos y bovinos en Corea y Estados Unidos de América, el 100% fue resistente a eritromicina, seguido de ampicilina (27.2%), cefalotina (18.2%) y tetraciclina (18.2%). Diversos autores han registrado resistencia a cloranfenicol hasta de 91% en cepas de *E. coli* aisladas en países europeos, asiáticos y de América del Norte.¹⁹⁻²³ La resistencia a los antimicrobianos mencionados son similares a otros estudios en el Estado de México y países asiáticos, europeos y de América del Norte, lo que sugiere una transferencia horizontal de material genético en forma dinámica en las poblaciones animales desde la etapa de producción hasta la elaboración de productos y subproductos de origen animal. Los aislamientos de *E. coli* que presentaron resistencia a ampicilina y cloranfenicol también presentaron los genes *Pse-1* y *floR* resultados coincidentes con los mencionados por Varela,²⁴ quien informó una relación de 73.68% para la resistencia a ampicilina y la presencia del gen *Pse-1*, en aislamientos de *Salmonella* spp. En cuanto a la resistencia a cloranfenicol, estudios realizados en Perú por Mosquito *et al.*,² sugieren que ésta puede estar mediada o relacionada con genes como *cmlA* y *floR*.² En un estudio realizado en Mozambique con *Shigella* y *Salmonella* se determinó que los mecanismos de resistencia a cloranfenicol se relacionaban con la presencia de *CAT* (89 y 67%), *cmlA* (2 y 33%) y *floR* (0 y 83%), respectivamente.²⁵ En este estudio se encontró una correspondencia entre los aislamientos que presentaron los genes de resistencia *Pse-1* y *floR*, con la presencia de integrones clase I, los cuales están relacionados con los casetes de resistencia a Beta-lactámicos y otros antibióticos. Se encontró que 5 de los 10 (50%) aislamientos que presentaron los genes *Pse-1* y *floR*, presentaron también el gen *Cs3Cs5*, coincidiendo con lo registrado en Perú en aislamientos de *E. coli*, que describían multiresistencia y presentaban integración clase I.

Estos resultados sugieren que la resistencia antibiótica y la transferencia de material genético pueden ser por el uso inadecuado de antibióticos, que representa un riesgo para la salud pública, por lo que la vigilancia permanente en su uso es de suma importancia para determinar la presencia y la prevalencia de cepas resistentes en alimentos cárnicos.²⁶

6. BAILEY JK, PINYON JL, ANANTHAM S, HALL RM. Commensal *Escherichia coli* of healthy humans: a reservoir for antibiotic-resistance determinants. *J Med Microbiol* 2010; 59:1331-1339.
7. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA. Dirección general de inocuidad Agroalimentaria, Acuicola y Pesquera. Programa nacional de Reducción de Patógenos. México DF: SENASICA, 2010.
8. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México DF: DOF, 10 mayo 1995.
9. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Manual de Procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos. Argentina: WHO Global Salm Surv para América del Sur, 2007.
10. REYES R N E. Prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 y factores de riesgo en canales de bovinos del centro-norte del Estado de México (tesis de maestría). Toluca, México: Universidad Autónoma del Estado de México, 2010.
11. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Thirteenth Informational Supplement. 8th ed., Vol. 24, No. 1. Approved standard M100-S13. USA: NCCLS, 2004.
12. CHIU CH, SU LH, CHU CH, WANG MH, YEN CM, WELLI FX *et al.* Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage types DT102, DT104, and U302 by Multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2354-2358.
13. CORDOVA B C. Estudio de la Resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica*, serotipos Enteritidis, Typhi y Gallinarum, aisladas de aves y humanos (tesis de diplomado). México DF: Universidad Autónoma de México, 2008.
14. WAYNE W D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. México DF: Ed. Limusa, 2006.
15. MICHANIE S. La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis Alimentación, 2003, Año IX, No 3.
16. BYRNE C M, EROLI I, CALL J E, KASPAR W C, BUEGE R D, HIEMKE J C *et al.* Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from Downer and Healthy Dairy Cattle in the Upper Midwest Region of the United States. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 4683-4688.
17. RATNAM S, MARCH B, AHMED R, BEZANSON GS, KASATIYA S. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J. Clin Microbiol* 1998; 26: 2006-2012.
18. JI-YEON K, SO-HYUN K, NAM-HOON K, WON-KI B, JI-YOUN L, HYE-CHEONG K *et al.* Isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 using different detection methods and molecular determination by multiplex PCR and RAPD. *J Vet Sci* 2005; 6: 7-19.
19. NIWA H, ANZAI T, IZUMIYA H, MORITA-ISHIHARA T, WATANABE H, UCHIDA I *et al.* Antimicrobial Resistance and Genetic Characteristics of *Salmonella* Typhimurium Isolated from Horses in Hokkaido, Japan. *J Bet Med Sci* 2009; 71:1115-1119.
20. CUEVAS CFA. Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the ocurrent status and its causes. *J Infect Developing Countries* 2010; 4:126-131.
21. BREUIL J, BRISABOIS A, CASIN I, ARMAND-LEFEVRE L, FRÉMY S, COLLATZ E. Antibiotic resistance in salmonellae isolated from Humans and animals in France: comparative data from 1994 and 1997. *J Antimicrob Chermother* 2000; 46:965-971.
22. FASHAE K, OGUNSOLA F, AARESTRUP FM, HENDRIKSEN RS. Antimicrobial susceptibility and serovars of *Salmonella* from chickens and humans in Ibadan, Nigeria. *J Infect Developing Countries* 2010; 4:484-494.
23. SU LH, CHIU CH, CHU C, OU JT. Antimicrobial resistance in Nontyphoid *Salmonella* serotypes: A Global Challenge. *Clin Infect Dis* 2004; 39:546-551.
24. VARELA G J A. Resistencia fenotípica-genotípica en cepas de *Salmonella* spp., aisladas de canales de bovinos del centro norte del Estado de México (tesis de maestría). Toluca México: Universidad Autónoma del Estado de México, 2011.
25. MANDOMANDO I, JAINTILAL D, PONS MJ, VALLES X, ESPASA M, MENSA L *et al.* Antimicrobial susceptibility and mechanisms of resistance in *Shigella* and *Salmonella* isolates from children under five years of age with diarrhea in rural Mozambique. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:2454.
26. BAILEY JK, PINYON JL, ANANTHAM S, HALL RM. Commensal *Escherichia coli* of healthy humans: a reservoir for antibiotic-resistance determinants. *J Med Microbiol* 2010; 59: 1331-1339.