



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

SENSIBILIDAD *in vitro* DE *Salmonella* spp. A DIFERENTES
BACTERICIDAS DE USO AGRÍCOLA

TESIS

QUE, COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE LA
LICENCIATURA DE INGENIERO AGRÓNOMO INDUSTRIAL

PRESENTA:

REYES MÁRQUEZ NAHÚM GERARDO

MODALIDAD: TESIS

ASESORES

DRA. OCAÑA DE JESÚS ROSA LAURA

DR. SÁNCHEZ PALE JESÚS RICARDO



CAMPUS UNIVERSITARIO "EL CERRILLO", PIEDRAS
BLANCAS, MUNICIPIO DE TOLUCA, MÉX., NOVIEMBRE 2023

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Bactericidas de uso agrícola usados en la presente investigación y su preparación para el ensayo <i>in vitro</i>	22
Cuadro 2. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y cinco tratamientos más un testigo, bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo.....	26
Cuadro 3. Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de <i>Salmonella</i> ante cinco tratamientos y un testigo a 24 horas.....	27
Cuadro 4. Separación de medias en el halo de inhibición (mm) para el factor bactericida en las tres cepas de <i>Salmonella</i> a las 24 horas de la siembra.....	28
Cuadro 5. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Typhi 151H a diferentes bactericidas de uso agrícola	28
Cuadro 6. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Typhi 151H	29
Cuadro 7. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Enteritidis a diferentes bactericidas de uso agrícola	30
Cuadro 8. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Enteritidis	30
Cuadro 9. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Typhimorium ATCC140028 a diferentes bactericidas de uso agrícola	31
Cuadro 10. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Typhimorium ATCC140028.....	32
Cuadro 11. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 5 tratamientos más un testigo, bajo un diseño al azar, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo.....	32
Cuadro 12. Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de <i>Salmonella</i> ante cinco tratamientos y un testigo a 72 horas.....	33

Cuadro 13. Separación de medias en el halo de inhibición (mm) para el factor bactericida en las tres cepas de <i>Salmonella</i> a las 72 horas de la siembra	34
Cuadro 14. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Typhi 151H a diferentes bactericidas de uso agrícola	34
Cuadro 15. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Typhi 151H	35
Cuadro 16. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Enteritidis a diferentes bactericidas de uso agrícola	36
Cuadro 17. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Enteritidis	36
Cuadro 18. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de <i>Salmonella</i> Typhimorium ATCC140028 a diferentes bactericidas de uso agrícola	37
Cuadro 19. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de <i>Salmonella</i> Typhimorium ATCC140028	38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Inoculo de <i>salmonella</i> serotipo Typhimorium ATCC140028	21
Figura 2 Inoculo de <i>salmonella</i> serotipo Typhi 151H	21
Figura 3 Inoculo de <i>salmonella</i> serotipo Enteritidis	21
Figura 4 Bactericidas empleados en el experimento.....	23
Figura 5 Medición del halo de inhibición pasados 24hrs. del tratamiento.	24
Figura 6 Medición del halo de inhibición pasados 78hrs. del tratamiento.	24

CONTENIDO

Dedicatorias	II
Agradecimientos	III
Índice de cuadros	IV
Índice de figuras	V
Contenido	VI
Resumen	VIII
Abstract	X
I. Introducción	1
II. Objetivos	4
III. Hipótesis.....	4
IV Justificación	5
V. Revisión de literatura	6
V.1 Tipos de peligros en alimentos	6
V.2 Contaminantes microbiológicos	6
V.3 Fuentes de contaminación	7
V.4 Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)	9
V.5 Inocuidad alimentaria	10
V.6 Salmonella	12
V.7 Clasificación taxonómica de <i>Salmonella</i>	13
V.8 Síntomas ocasionados por <i>Salmonella</i>	13
V.9 Métodos para evaluar la sensibilidad <i>in vitro</i> de bacterias.....	14
V.10 Uso de bactericidas agrícolas	16
V.6.1 Kasumin ®.....	17
V.6.2 Terramicina® agrícola 5%	18
V.6.3 Agry-gent plus 5000	18
V.6.4 Hidrobacter	18
V.6.5 COMET- Sulfato de cobre pentahidratado	19
VI. Materiales y métodos	20
VI.1 Ubicación del experimento	20
VI.2 Preparación del medio de cultivo	20
VI.3 Activación de cepas	20

VI.4 Preparación del inóculo.....	21
VI.5 Preparación de bactericidas.....	22
VI.6 Prueba de sensibilidad Método de antibiograma de discos (Kirby-Bauer) .	23
VI.7 Variables a evaluar	24
VI.8 Análisis de datos	24
VII. Resultados.....	26
VIII. Discusión.....	39
IX. Conclusión	43
X. Bibliografía	44
XI. Anexos	52

RESUMEN

En la agronomía existen muchas problemáticas, principalmente de microorganismos patógenos que afectan a los humanos directa o indirectamente, ya que son organismos microscópicos los cuales no podemos observar a simple vista como lo es *Salmonella spp.* Esta es una bacteria fecal lo cual quiere decir que se transmite mediante heces, es de tipo Gram negativa de la familia Enterobacteriaceae y puede ser transmitido a los alimentos en toda la cadena productiva, por diversos factores como incorrecto lavado de manos, uso de aguas contaminadas, presencia de animales de granja, domésticos, entre otros.

Las frutas y verduras han sido parte importante de la dieta alimenticia saludable en el ser humano por muchos años, así como los productos provenientes de origen animal (cárnicos y lácteos), los cuales no se encuentran exentos de contener microorganismos patógenos, que pueden afectar la salud del consumidor. En años recientes se han reportado un incremento sobre la cantidad de enfermedades que son transmitidas por frutas y verduras contaminadas, donde se ha visto afectado tanto al mercado nacional como internacional, esto cobra importancia debido a que las exportaciones son una de las principales fuentes de ingresos para quienes se dedican a los productos alimenticios, por esto, es importante mantener un buen manejo en cada parte de la cadena de producción, incluyendo el campo, la postcosecha y en la industria, como son, las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Sistemas de Reducción de Riesgos SRR ayudan a asegurar la inocuidad de los alimentos. Aunque para los productos agrícolas de venta en México no se disponen de registros sobre la implementación de las BPA y BPM, existen diversos métodos de control para patógenos que se han implementado y reforzado en la industria médica y farmacéutica, uno de los más comunes es el uso de antibióticos cuya

función es eliminar microorganismos que afectan a la salud humana o animal, por lo que el efecto de estos en el uso agrícola para combatir bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos es realmente incierto. Por esto, se evaluó en condiciones *in vitro*, el efecto de los bactericidas de uso agrícola Kasumin (kasugamicina), Terramicina Agrícola 5% (clorhidrato de oxitetraciclina), Agry-Gent Plus 5000 (gentamicina + oxitetraciclina), Hidrobacter (sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina), Comet sulfato de cobre (sulfato de cobre pentahidratado). En dosis comerciales y un testigo (agua destilada estéril), a cepas de *Salmonella* 151H, 140028 y Enteritidis. Para este fin, se utilizó la metodología de Kirby-Bauer, la cual consiste en la inoculación de los serotipos antes mencionados sobre placas con agar nutritivo, formando un césped bacteriano y posteriormente se colocan discos de papel filtro previamente impregnados con los bactericidas a un tiempo de contacto de 10 minutos. Las placas Petri se incubaron a 35°C y se midió la formación de halos de inhibición transcurridas 24 y 72 horas, con ayuda de un vernier. Los resultados obtenidos, indicaron que la cepa que mostró mayor halo de inhibición en las dos evaluaciones fue *Salmonella* Enteritidis. De igual forma, se obtuvo un efecto inhibitorio de todos los bactericidas a las tres cepas de *Salmonella spp* (Enteritidis, Typhi 151H y Typhimorium ATCC140028), mostraron una respuesta similar, siendo AGRIGENT PLUS 5000 el bactericida agrícola que mostró la mayor efectividad en las dos evaluaciones. Los bactericidas HIDROBACTER y SULFATO DE COBRE también mostraron efectividad, pero en menor proporción (menor halo de inhibición). En contraste, KASUMIN y TERRAMICINA AGRÍCOLA mostraron una respuesta nula, similar al testigo.

Palabras clave: Bactericidas agrícolas, sensibilidad, inhibición, *Salmonella*.

In vitro SENSITIVITY OF *Salmonella* spp. TO DIFFERENT AGRICULTURAL
BACTERICIDES

ABSTRACT

In agronomy there are many problems, mainly with pathogenic microorganisms that affect humans directly or indirectly, since they are microscopic organisms that we cannot observe with the naked eye, as is the case of *Salmonella* spp. This is a fecal bacterium, which means that it is spread through feces, it is Gram-negative, of the family Enterobacteriaceae, and it can be transmitted to foods throughout the chain of production through diverse factors such as incorrect hand washing, use of contaminated water, presence of farm and domestic animals, among others.

Fruits and vegetables, as well as animal-based food products such as meat and dairy, have long been recognized as an important part of a healthy diet for humans, but all of these products can contain pathogenic microorganisms that can endanger the health of the consumer. In recent years, there have been reports of increases in the amount of illnesses transmitted by contaminated fruits and vegetables, which have affected both the national and international markets. This is important because exports are one of the main sources of income for producers of food products. As such, it is important to maintain good management in each part of the chain of production, including the field, postharvest, and industry, such as Good Agricultural Practices (GAP), Good Manufacturing Practices (GMP), and Risk Reduction Systems (RRS), which help to ensure food safety. The Mexican market does not implement specific registries of GAP and GMP for food products, but several pathogen control methods that are routinely implemented in the pharmaceutical and medical industries have been utilized in food production. One of the

most common methods is the use of antibiotics to eliminate microorganisms that affect human or animal health. However, the effectiveness of the use of antibiotics to prevent bacterial food-borne illness specifically in an agricultural and food-production context remains unclear. For this reason, we evaluated, under *in vitro* conditions, the effect of the agricultural-use bactericides Kasumin (kasugamycin), Terramicina Agricola 5% (oxytetracycline hydrochloride), Agry-Gent Plus 5000 (gentamicin + oxytetracycline), Hidrobacter (kanamycin sulfate + oxytetracycline hydrochloride), and Comet copper sulfate (copper sulfate pentahydrate) at commercial doses and a negative control (sterile distilled water), on strains of *Salmonella* 151H, 140028 and Enteritidis. We used the Kirby-Bauer method, which consists of inoculating the aforementioned serotypes onto nutritive agar plates, forming a bacterial lawn, and then placing disks of filter paper previously impregnated with the bactericides for a contact time of 10 minutes. The Petri dishes were incubated at 35°C and we measured the formation of inhibition halos after 24 and 72 hours using a caliper. The results obtained indicated that the strain that showed the largest inhibition halo in the evaluations was *Salmonella* Enteritidis. Similarly, there was an inhibitory effect of all of the bactericides on all three strains of *Salmonella* spp. (Enteritidis, Typhi 151H and Typhimorium ATCC140028), which showed a similar effect, with AGRIGENT PLUS 5000 being the agricultural bactericide that showed the highest effectiveness in both evaluations. The bactericides HIDROBACTER and COPPER SULFATE also showed effectiveness, but to a lesser degree (smaller inhibition halos). In contrast, KASUMIN and TERRAMICINA AGRÍCOLA showed no response, similar to the negative control.

Key words: Inhibition, *Salmonella*, Agricultural antibiotics.

I.-INTRODUCCIÓN

Para la industria agroalimentaria la salud de los consumidores siempre ha sido de importancia relevante, ya que estos son quienes van a decidir elegir el producto que se oferta, es por esto, que la implementación de inocuidad en los alimentos desde la producción y hasta el producto final, es garantía importante para asegurar que la salud del consumidor no se vea afectada.

Salmonella es una bacteria encontrada en diversos alimentos frescos y procesados, como: huevo, frutas, vegetales, carne de pollo, res, cerdo, etc. Los CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades) tienen un valor estimado en los Estados Unidos de más de 1 millón de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) donde *Salmonella* es la principal causa (CDC, 2020).

Las formas de contraer *Salmonella* son, mediante la ingesta de agua y/o alimentos contaminados, el medioambiente, otras personas y animales, así como mascotas y los animales con los que pudiera tener contacto (CDC, 2020).

La infección por *Salmonella* (salmonelosis) es una enfermedad de tipo bacteriana que afecta al aparato intestinal. Es muy común que las personas que tienen una infección por *Salmonella* no presenten síntomas y las que si presentan manifiestan diarrea, fiebre y calambres abdominales, esto dentro de las 8 a 72 horas posteriores a la infección (Mayo Clinic, 2019). Es importante mencionar que, la severidad de la afección depende de factores propios del huésped y del serotipo de *Salmonella* que infecte a este (WHO, 2018). Entre los años 2000-2002 fueron reportados tres brotes diarreicos derivados del consumo de melón "Cantaloupe" (*cucumis melo L.*) en Estados Unidos y Canadá, en los que se

identificó a *Salmonella* ser. *Poona* como agente causal; se señaló como posibles vehículos de contaminación el agua de riego y el agua de uso en las empacadoras (CDC, 2002).

Los grupos de edad más susceptibles a Enfermedades por Transmisión Alimentaria (ETA) derivadas de infección por *Salmonella* son, niños menores de 5 años, los adultos de 65 años o más, y las personas cuyo sistema inmunitario se encuentre debilitado a causa de enfermedades crónicas (diabetes, enfermedades del hígado, riñones o cáncer) (CDC, 2020).

La falta de Buenas Prácticas Agrícolas, puede ser un factor importante para la transmisión y proliferación de patógenos, por ejemplo, el uso de riego con aguas negras, mal proceso de abonos provenientes de heces animales, así como el pastoreo de animales infectados dentro de las parcelas, en este caso es importante el control veterinario para prevenir la transmisión de *Salmonella* (OPS, 2023).

La presencia de enteropatógenos y la resistencia a los antimicrobianos en alimentos es un problema de salud pública a nivel mundial. *Salmonella* es uno de los patógenos entre los que han aparecido serotipos que presentan resistencia a los antimicrobianos (WHO, 2018). Aunque la mayoría de las infecciones por *Salmonella* son autolimitantes y no requieren tratamiento con antimicrobianos, los niños, adultos mayores y pacientes con enfermedad severa o inmunocomprometidos pueden requerir la prescripción de antibióticos como ampicilina, cloranfenicol y trimetoprima-sulfametoxazol ya que llegan a experimentar episodios diarreicos (Miko *et al.* 2005). Además, una práctica muy común es la automedicación, la cual no establece un buen tratamiento ni en dosis ni en tiempo. Los medicamentos con más índice que se autorrecetan son ciprofloxacino, aminoglucósidos y tetraciclinas (Bada-Alamedji *et al.*, 2006).

En el periodo de 2008 al 2009 fueron identificadas 178 cepas de *S. enterica* aisladas de alimentos en diferentes regiones de Cuba, las cuales presentaron resistencia a antibióticos como la tetraciclina (70.7 %), ampicilina (22.7 %) y ácido nalidíxico (Puig *et al.*, 2011).

En el año del 2020, en México fue determinado que de 278 cepas que fueron evaluadas (231 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella* spp; 8 *Enterobacter* spp, 7 *Proteus* spp, 7 *Citrobacter* spp, 1 *Serratia* spp), la mayor resistencia presentada fue para: ampicilina con 74,1 %, y la mayor sensibilidad fue para amikacina con 100 % (Morales-Espinosa *et al.*, 2020).

UNAM (2018) en el Plan UCRA que es el Plan Universitario para Control de Resistencia a Antibióticos, demostró que la resistencia en Gram negativos es muy elevada.

Un ejemplo es un urocultivo en el cual se encuentra un óptimo rango de actividad de nitrofurantoína para *E. coli*. Los niveles de resistencia a ciprofloxacino y cefalosporinas son muy elevados.

De igual manera Morales-Espinosa *et al.* (2020) en un estudio en el cual se aislaron bacterias Gram negativas de infección por vías urinarias determinó que la resistencia más alta fue para: ampicilina con 74,1 %, seguida de ampicilina-sulbactam con 63,7 %, las fluoroquinolonas: ciprofloxacino con 60,4% y levofloxacino con 58,3%. En contraste, la sensibilidad más alta fue observada en amikacina con 100 %, seguida por tigeciclina con 95,7 % y los carbapenems.

Morán (2021) determinó que los bactericidas de uso agrícola (Kasumin, Terramicina Agrícola 5%, Agry-Gent Plus 5000, Hidrobacter y Comet sulfato de cobre), tuvieron un efecto inhibitorio en el crecimiento de tres cepas de *E. coli*, pero se desconoce el efecto en *Salmonella*. Por lo que los objetivos del presente trabajo son:

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar de manera *in vitro* el efecto de bactericidas de uso agrícola para inhibir el crecimiento de tres cepas de *Salmonella* spp.

OBJETIVO PARTICULAR

Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de los ingredientes activos Kasugamicina, clorhidrato de oxitetraciclina, gentamicina + oxitetraciclina, sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina y sulfato de cobre pentahidratado a tres cepas de *Salmonella* spp.

III. HIPOTESIS

Uno o varios ingredientes activos (kasugamicina, clorhidrato de oxitetraciclina, gentamicina + oxitetraciclina, sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina y sulfato de cobre pentahidratado) de los bactericidas de uso agrícola a evaluar tendrán diferente efecto inhibitorio sobre las cepas de *Salmonella*.

IV. JUSTIFICACIÓN

La producción de alimentos es uno de los factores más importantes en el mundo, ya que gracias a eso podemos satisfacer necesidades primordiales, que, a lo largo de los años han ido cambiando, así mismo la inocuidad dentro de este factor es un punto importante ya que alimentos saludables y no contaminados generan una mayor demanda para los productores logrando abrir nuevos mercados.

En el sector agrícola la salud para el consumidor final es muy importante ya que es un factor que determina el consumo de los productos que se estén ofreciendo, siendo los más demandados los que cumplan con los requisitos de calidad del consumidor y no le causen daño alguno. Sin embargo, a lo largo de la historia se han reportado diversos cultivos infectados con *Salmonella* spp, como es la cebolla, melón, papaya, etc. los cuales han sido causa de pérdidas tanto de producto como económicas; su control es de forma preventiva y no correctiva.

Por esta razón se realizó esta investigación con la finalidad de generar la información acerca del comportamiento de *Salmonella* a los diferentes bactericidas de uso agrícola, ya que no se encuentran estudios ni información previos sobre el tema, y con esto colaborar con quienes tienen la necesidad de aplicarlo en campo de una forma segura y eficaz.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

V.1 Tipos de peligros en alimentos

-Biológicos: Se trata de seres vivos, la mayor parte de los cuales no se pueden ver a simple vista como bacterias, virus, toxinas o parásitos. Son los que con mayor frecuencia se presentan en los alimentos y generan intoxicaciones alimentarias o toxoinfecciones.

-Químicos: Son sustancias que no han sido añadidos a los alimentos de forma intencionada pero que pueden entrar en contacto en alguna etapa de su producción, como los pesticidas, metales pesados o cualquier sustancia o compuesto con efectos nocivos sobre la salud.

-Físicos: Se refiere a la presencia de cualquier elemento extraño en los alimentos como trozos de material frágil como plástico, cristal, metal o cualquier otra sustancia ajena al producto (Villar, 2019).

V.2 Contaminantes microbiológicos

La mayoría de los cultivos de frutas y verduras están en un ambiente natural y, por tanto, se mantienen expuestos a una amplia gama de microorganismos. La mayor parte de estos contaminantes microbiológicos son recuperados a partir de las frutas y verduras crudas en el momento de su recolección no representan un riesgo de salud humana, pero pueden causar deterioros y estos ser vías de entrada para el desarrollo de patógenos causantes de enfermedades a humanos. El número de brotes causados por patógenos en alimentos que se encuentran asociados a los productos agrícolas frescos se ha incrementado durante las pasadas tres décadas. Esta tendencia continuará si no se realizan los esfuerzos necesarios

para entender las interacciones complejas que se producen entre los microorganismos, las frutas, los vegetales frescos, y los mecanismos por los que la contaminación es producida desde la granja hasta el consumidor final (Matthews, 2008).

Comprender la dificultad del problema sobre la contaminación microbiana de los vegetales y tener conciencia de su relevancia es el primer paso para conseguir una calidad adecuada en los productos hortífrutícolas. Al nivel de la tecnología actual no es posible eliminar el riesgo al 100%, por lo que hay que establecer medidas para reducirlo. Lo más efectivo, preferible y con menor gasto es prevenir la contaminación en frutas y hortalizas que eliminarla una vez que se presenta la infección (Puig *et al.*, 2014).

Las diversas etapas que debe pasar un producto desde la cosecha hasta el consumo ya sea fresco o procesado proveen oportunidades para incrementar la contaminación microbiana que naturalmente trae del campo. La presencia de microorganismos no visibles a simple vista ni detectables a través de cambios en la apariencia, sabor, color u otra característica externa, nocivos para la salud humana son de gran importancia. Se ha demostrado que ciertos patógenos se benefician de la capacidad para persistir sobre el producto el tiempo suficiente como para determinarse un peligro para la salud del ser humano y de hecho existen reportes de numerosos casos sobre enfermedades asociadas al consumo de frutas y hortalizas (FAO, 2003).

Existen tres tipos de microorganismos que representan un peligro para la salud humana que pueden ser transportados por frutas y hortalizas, estos son: virus (*Hepatitis A*), bacterias (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.* y otras) y parásitos (*Giardia spp.*) (FAO, 2003).

V.3 Fuentes de contaminación

El análisis y evaluación de riesgos, es una herramienta que se utiliza ampliamente en la agricultura, por lo tanto, su aplicación en la contaminación de alimentos podría permitir llegar a un objetivo holístico que persiguen tanto la FAO como la OMS, ya que esto lograría organizar la información para un mejor entendimiento sobre la interacción entre microorganismos, alimentos y enfermedades humanas; además permitiría hacer comparación entre diferentes escenarios y optimizar la toma de decisiones que están enfocadas en mejorar una determinada situación de riesgo, que reduce así las probabilidades y el impacto de la contaminación antes que esta suceda, en lugar de únicamente detectar la contaminación microbiológica de los alimentos (Vargas, 2015).

La FAO propone la herramienta de análisis de riesgos que brinda una posibilidad para gestionar los riesgos de contaminación en alimentos; a la vez plantea que no hay un método definido con claridad que ayude a realizar el análisis del riesgo en los procesos de producción de los alimentos, lo que muestra que existe una gran variabilidad entre una enorme lista de factores que podrían influir sobre los resultados. Dentro de estos factores altamente variables, menciona aquellos que van ligados al sistema de producción, ambientales determinados por la geografía, fisiológicos de los cultivos y la intervención humana, tal vez uno de los más importantes, ya que este factor es una de las principales fuentes de contaminación que influye y que puede modificar el medio para aumentar la contaminación y transmitirla de un lugar a otro (Mei *et al.*, 2013).

Vargas (2014) indica que las fuentes de contaminación más comunes dentro de un sistema de producción son las siguientes: fuentes de agua para aplicación de riego, así como sistema de riego implementado, manejo de drenajes, fertilización, podas mal elaboradas, aporcas, tutorado, monitoreos o evaluaciones, presencia de animales domésticos, entre otros.

Entre las medidas para el manejo de las fuentes de contaminación, se menciona a las condiciones y procedimientos que sigue el factor humano quien participa en el proceso de producción (condiciones tales como: capacitaciones en las diferentes actividades realizadas y manejo de buena higiene en las mismas, disponibilidad de servicios sanitarios, áreas de alimentación adecuadas, agua potable para realizar sus diversas necesidades básicas. Los procedimientos tales como: buena higiene personal, uso de ropa exclusiva y adecuada para el trabajo, así como, informar sobre el padecimiento de enfermedades infectocontagiosa) (Vargas, 2014).

Por otro lado, la WHO (2018) menciona que las fuentes más comunes de contaminación son: el consumo de alimentos contaminados provenientes de origen animal (como fuente principal huevos, carne, aves de corral y leche), también hay otros alimentos que se han ligado a la transmisión, como por ejemplo hay hortalizas contaminadas por estiércol de la composta mal tratada. También pueden transmitirse entre las personas por la vía fecal-oral. Además, se pueden producir casos cuando las personas entran en contacto con animales infectados, incluidas las mascotas. A menudo, esos animales no presentan signos de enfermedad.

V.4 Enfermedades de transmisión alimentaria (ETA)

Las infecciones transmitidas por alimentos son enfermedades causadas por la ingesta de alimentos infectados con microorganismos patógenos vivos. En cambio, una intoxicación causada por alimento ocurre cuando las toxinas producidas por el metabolismo de bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido o también puede ser producto del consumo de elementos químicos en cantidades que afecten la salud (Sánchez, 2022).

Todos los días, se reportan casos de personas que contraen enfermedades debido al consumo de alimentos contaminados por microorganismos y/o sustancias químicas tóxicas, que incluso pueden llegar a causar la muerte. Estas representan una grave amenaza para la salud, afectando principalmente a niños y niñas menores de 5 años, mujeres embarazadas, personas inmunosuprimidas y de la tercera edad (OPS, 2021).

Los alimentos de origen animal son con más frecuencia los más involucrados en epidemias y ETA (Sánchez, 2022).

Para que ocurra una ETA, el patógeno o las toxinas deben estar presentes en el alimento. Sin embargo, que esté presente el patógeno no significa que la enfermedad ocurrirá. En gran parte de los casos de ETA:

- El patógeno debe estar presente en una cantidad suficientemente alta como para causar una infección o para producir toxinas.

- El alimento debe ser capaz de sustentar el crecimiento de los patógenos, o sea, debe presentar características favorables que ayuden al desarrollo del agente.

- El alimento debe permanecer en la zona de peligro a temperatura favorable durante el tiempo necesario como para que el patógeno pueda multiplicarse y/o producir toxinas.

- Las cantidades (porciones) del alimento que contiene el agente a ingerir deben ser suficientes, para que sea sobrepasada la barrera de susceptibilidad del individuo. (Sánchez, 2022).

V.5 Inocuidad alimentaria

La inocuidad alimentaria se puede describir como un conjunto de condiciones y medidas necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y preparación de

alimentos, esta nos asegura la disminución (a niveles seguros y aceptables) de los posibles riesgos por el consumo de los alimentos que puedan dañar la salud del consumidor. Los peligros transmitidos por los alimentos pueden ser de naturaleza biológica: bacterias, virus, parásitos; química, por ejemplo: residuos de pesticidas o física (clavos, vidrio, etc.) y con frecuencia son invisibles a nuestros ojos (Argentina, 2022).

La inocuidad se lleva a cabo durante la producción donde se aplicarán medidas de higiene para reducir el riesgo de que los alimentos se contaminen en cualquier punto de la cadena de producción y con ello causar enfermedades a los humanos (GOB. MX, 2016).

Recomendaciones para los productores de frutas, hortalizas y pescado

La WHO, 2018 informa a los trabajadores rurales, incluidos los pequeños productores que cultivan frutas, hortalizas y pescan para consumo propio, así como para la venta local, sobre las prácticas de más relevancia para evitar la contaminación microbiana también menciona cinco claves para cultivar frutas y hortalizas más seguras y así promover la salud generando una disminución de la contaminación microbiana así como las Cinco claves para una mayor inocuidad de los productos de acuicultura con objeto de proteger la salud pública.

Cinco claves para cultivar frutas y hortalizas más seguras son:

Evitar la contaminación fecal por animales en el campo.

Utilizar residuos fecales tratados.

Hacer practica de una buena higiene personal.

Realizar evaluaciones y gestiones de los riesgos del agua de riego.

Mantener una limpieza y humedad baja de los equipos para cosecha y las instalaciones de almacenamiento.

Cinco claves para una mayor inocuidad de los productos de acuicultura con objeto de proteger la salud pública son:

- Mantener una buena higiene personal.
- Limpiar el estanque.
- Gestionar la calidad del agua.
- Cuidar la salud de los peces.
- Utilizar equipo de captura y recipientes limpios (WHO, 2018).

V.6 *Salmonella*

Son bacilos Gram-negativos que pertenecen a la familia de los Enterobacteriaceae, puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua, se han identificado más de 2500 serotipos o serovares diferentes en dos especies diferentes, (*Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*) (WHO, 2018).

Se sabe que todos los serotipos pueden ser factores de enfermedad en el ser humano, pero solo unos pocos son específicos de algunos huéspedes por lo tanto pueden alojarse solo en una o en unas pocas especies animales, por ejemplo, *Salmonella enterica* serotipo Choleraesuis en porcinos *Salmonella enterica* serotipo Dublin en vacunos, y. Cuando esos serotipos provocan la enfermedad en las personas normalmente son invasivos y pueden ser mortales (WHO, 2018).

Salmonella inicia su ciclo de infección posterior de la ingesta de agua o alimento contaminado invadiendo al hospedero a través del tejido linfoide, sin excluir las placas de

Peyer. Se adhiere a las células epiteliales del íleon apicalmente y a las células M que, debido a la ausencia de microvellosidades, así como de glicocálix, representan una puerta de entrada ideal para las enterobacterias (Figuroa y Verdugo, 2005).

La presencia de enterotoxina ha sido demostrada en *S. enterica* serovar Typhimurium así como también en *S. enterica* serovar Typhi con una similaridad a las enterotoxinas de *Vibrio cholerae* (CT) y toxina termolábil (LT) de *E. coli* (Figuroa y Verdugo, 2005).

V.7 Clasificación taxonómica de *Salmonella*

Dominio: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacterales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *Salmonella*

Especie: *enterica*

Sub-especie: *enterica*

Serovares: Typhimurium,

Typhi y Enteritidis

Fuente: NCBI (2004) e Ivami (2014).

V.8 Síntomas ocasionados por *Salmonella*

El período de incubación el cual se lleva a cabo posterior a la ingesta del alimento contaminado oscila entre unas horas y dos días dependiendo del hospedero. La mayoría de las infecciones por *Salmonella* son clasificadas como gastroenteritis. Los siguientes son

algunos de los posibles signos y síntomas que han presentado pacientes infectados: náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre, escalofríos, cefalea y hematoquecia. Los signos y síntomas de la salmonelosis duran de dos a siete días regularmente. La diarrea puede durar hasta 10 días, aunque pueden pasar varios meses para que los intestinos vuelvan a la normalidad (Mayo Clinic, 2019).

V.9 Métodos para evaluar la sensibilidad *in vitro* de bacterias

➤ Difusión en agar (Técnica de Kirby & Bauer)

La técnica de difusión en agar es completamente cualitativa y los resultados solo pueden ser interpretados como sensible, intermedio o resistente, y está diseñada específicamente para evaluación de bacterias de crecimiento rápido como *Staphylococcus* sp. o integrantes de la familia *Enterobacteriaceae*.

El inóculo bacteriano, se aplica sobre la superficie de una placa de Petri previamente preparada y solidificada. La cepa se debe aplicar con la técnica de estriado sobre la superficie del medio agar, de forma tal que se logre un crecimiento. Una vez realizado esto, en un plazo no mayor de 15 minutos, se procede a colocar los discos o las pastillas con el antibiótico.

Posteriormente, la placa se incuba a 35°C y por un periodo no mayor a las 18 horas excepto para los aislamientos de *Staphylococcus* sp y *Enterococcus* sp, para los cuales se recomienda una incubación de 24 horas.

Cada placa es observada apoyado de una luz indirecta y cada halo de inhibición es medido con ayuda de un caliper o en su defecto una regla graduada.

➤ **Método de Dilución en agar**

Técnica cualitativa la cual se emplea para conocer con exactitud qué concentración de antibiótico es la necesaria para lograr controlar un proceso infeccioso dado. De la misma forma que la técnica de difusión, en las de dilución, hay que controlar el medio de cultivo, el inóculo bacteriano y el antibiótico. Podemos mencionar tres: dilución en agar, en tubo y la micro titulación (Herrera, 1999).

➤ **Dilución en agar**

Se preparan tubos en concentración definida de antibiótico y se agrega a cada tubo una cantidad de agar, este tubo se homogeniza y se vacía sobre una placa de Petri disponible logrando una placa de agar con el antibiótico diluido.

➤ **Macrotitulación en tubo**

Esta es derivada de la anterior, a diferencia que no se utiliza por la cantidad de material que emplea, y por el grave problema para detectar contaminaciones en el medio de cultivo, lo que podría arrojar un resultado de falsa resistencia.

➤ **Microtitulación**

Son empleadas placas plásticas, estériles, con tapa, de 96 pozos y un fondo en U. Cada una permite realizar a ocho cepas diferentes una Capacidad Mínima Inhibitoria (CMI) de un antibiótico, u ocho diferentes antibióticos a una cepa.

La preparación de las diferentes diluciones del antibiótico parte de una solución madre que será diferente para cada uno, se debe diluir en condiciones adecuadas y su escogencia depende del tipo de antibiótico y la cepa a probar.

➤ **E test**

Emplea una tira que contiene una matriz plástica con una concentración decreciente de un antibiótico determinado. El medio a usar es agar sangre con sangre de caballo al 5% y con una base de Müeller-Hinton o puede utilizarse agar HTM o agar chocolate suplementado. Se determina solamente la CMI, la lectura debe ser muy cuidadosa y puede hacerse con la ayuda de una lupa.

➤ **Métodos automatizados**

En este método son utilizadas tarjetas de plástico transparente para realizar la prueba de sensibilidad. Se trata de tarjetas de 30 pozos que son llenadas con el inóculo bacteriano, con ayuda de una bomba de vacío y posteriormente son selladas herméticamente, se introducen a una incubadora a 35°C tomando lecturas cada 10 minutos por el sistema y se mide la concentración del inóculo. Cada tarjeta debe llevar un pozo control positivo de crecimiento y es donde se construye una curva normal de crecimiento bacteriano

➤ **Control de Calidad**

Dicho control es realizado con cepas control de la American Type Culture Collection (ATCC) o alguna otra institución internacional dedicada a la producción y mantenimiento de cepas bacterianas.

Estas cepas presentan patrones de sensibilidad conocidos, por lo que, al realizar pruebas de sensibilidad, debe encontrarse dentro de los límites máximos o mínimos impuestos por las regulaciones internacionales (Herrera, 1999).

V.10 Uso de bactericidas agrícolas

Los plaguicidas, que son compuestos químicos utilizados para combatir plagas y enfermedades en cultivos agrícolas, pueden clasificarse según su naturaleza y

composición química en inorgánicos y orgánicos; y de acuerdo con su uso se clasifican en bactericidas, fungicidas y herbicidas (Gálvez *et al.*, 2018).

Los antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular, en general son bactericidas, que actúan alterando la membrana citoplásmica o interfiriendo con algunos aspectos del metabolismo del ADN, y los que inhiben la síntesis proteica son bacteriostáticos, excepto los aminoglucósidos (Calvo y Martínez, 2009).

La pared celular es un órgano que protege la integridad de la bacteria, una de sus funciones es soportar la presión osmótica interna (mayor en las bacterias Gram positivas). La destrucción del microorganismo resultaría por ausencia de esta estructura, el elevado gradiente de osmolaridad existente entre el medio y el citoplasma bacteriano sería la causa de esto. Es necesario que la bacteria se halle en crecimiento activo para que los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular actúen correctamente, lo que favorece el estallido celular es que el medio en que se encuentre la bacteria sea isotónico o hipotónico. Por su mayor riqueza en peptidoglucano suelen ser más activos sobre las bacterias Gram-positivas. Por actuar selectivamente en una estructura no presente en las células humanas, son poco tóxicos (Calvo y Martínez, 2009).

V.6.1 KASUMIN ®

Es un Fungicida-Bactericida de origen biológico cuyo ingrediente activo es la kasugamicina. KASUMIN® es un antibiótico aminoglucósido, producido por el metabolismo secundario de la bacteria del grupo actinomicetes clasificada como *Streptomyces kasugaensis*. Esta molécula inhibe la incorporación de aminoácidos a la síntesis de proteínas en bacterias y hongos. KASUMIN® es absorbido por hojas y raíces y traslocado rápidamente a todas las partes de la planta donde previene el crecimiento de

las lesiones. Debido a la gran acción sistémica y la traslocación en los tejidos de las plantas, KASUMIN® muestra una excelente eficacia aun con presencia de lluvia posterior a la aplicación (Arysta, 2018).

V.6.2 TERRAMICINA® AGRÍCOLA 5%

Antibiótico agrícola formulado a base de clorhidrato de oxitetraciclina, específico para el control de fitoplasmas, con efecto bacteriostático. Polvo humectable de acción sistémica. Control de bacteriosis, los cuales inducen síntomas como: achaparramientos, filodia, escoba de bruja, senescencia, enchinamientos, amarillamientos, proliferación, abortos, mosaicos, acortamientos de entrenudos, yema gigante, mal azul, punta morada y muchas variantes de estos síntomas (Zoetis, 2022).

V.6.3 AGRY-GENT PLUS 5000

Es un antibiótico de amplio espectro para el control preventivo y curativo de una amplia gama de bacterias que infestan los cultivos agrícolas. Los ingredientes activos son: Sulfato de Gentamicina al 10% + Clorhidrato de Oxitetraciclina al 30%. El sulfato de Gentamicina con su acción multisitio inhibe la síntesis de proteínas uniéndose irreversiblemente al ribosoma bacteriano, el Clorhidrato de Oxitetraciclina tiene un efecto sinérgico bacteriostático (Sumit Agro, 2018).

V.6.4 HIDROBACTER

Es un bactericida que contiene la mezcla de Sulfato de Kanamicina y Clorhidrato de Oxitetraciclina, dos antibióticos de alta calidad que tienen un amplio y efectivo espectro de control en las enfermedades bacterianas de los cultivos. Asociación de Kanamicina:

antibiótico sistémico inhibidor de la síntesis de proteínas con oxitetraciclina: antibiótico bacteriostático de amplio espectro en la que sus componentes actúan con efecto sinérgico. Inhibe la síntesis proteica al unirse de manera reversible a la unidad ribosomal impidiendo la transcripción del DNA bacteriano altera la permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana. Por tener un gran efecto sistémico, penetra en la planta a través de los estomas y se transporta a los puntos donde se encuentran afectando las colonias bacterianas, controlando de manera curativa al evitar la reproducción de las bacterias. También controla las bacterias de manera preventiva cubriendo de manera efectiva el tejido vegetal evitando así, su penetración a la planta (Agristar, 2020).

V.6.5 COMET- Sulfato de cobre pentahidratado

Fungicida bactericida multisitio, de acción preventiva, amplio campo de actividad y buena persistencia (MoA FRAC code M01) [25% en peso equivale 250 g de ingrediente activo (cobre metal)/kg de producto formulado, procedentes de 980 g de sulfato de cobre pentahidratado 98% con una riqueza en cobre metal del 25.5%]. Se piensa que, debido a su capacidad de quelación, el Cu sustituye a otros metales esenciales para la vida de los organismos en cantidades infinitesimales produciendo una intoxicación y consecuentemente la muerte. Su actividad la ejerce fundamentalmente durante la etapa de germinación de las esporas, por contacto y de forma solo preventiva, por lo que sus aplicaciones son limitadas (Portal Tecno Agrícola, 2022).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1 Ubicación del experimento

El trabajo experimental se realizó en la sala de laboratorio del invernadero 3 dentro de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario “El Cerrillo”, El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca.

VI.2 Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo empleado para el desarrollo del experimento fue agar -nutritivo, se utilizó 17.25 g disuelto en 750 mL de agua destilada, calentando hasta ebullición para una disolución completa, se procedió a esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min, se dejó enfriar a una temperatura de 45-50°C para posteriormente verterla en las cajas de Petri (35) dentro de la campana de flujo laminar, cuidando en todo momento la asepsia e inocuidad para evitar contaminar el medio.

Para la evaluación de la sensibilidad a Fungicidas se realizó la preparación de cajas petri con medio de cultivo Agar Salmonella y Shigella, 12 g disuelto en 200mL de agua previamente esterilizada en autoclave a 121°C por 15 min, se enfrió, se vertió el medio y se colocó en el agitador magnético a ebullición por un minuto se dejó enfriar a una temperatura de 45-50°C para posteriormente verterla en las cajas (14) dentro de la campana de flujo laminar, cuidando en todo momento la asepsia e inocuidad para evitar contaminar el medio.

VI.3 Activación de cepas

Para el presente estudio se utilizó tres cepas de *Salmonella* (151H, 140028 y Enteritidis), que fueron donadas por el Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Estas se encontraban almacenadas en viales con medio Luria Bertani, para reactivarlas se tomó una asada y se transfirió a medios selectivos, Salmonella Shigella y Xilosa Lisina Desoxicolato para observar la pureza y las características morfológicas de las colonias obtenidas.

VI.4 Preparación del inóculo

El inóculo se preparó en el medio Agar *Salmonella* y *Shigella* con la técnica de estriado y por agotamiento para aislar las cepas de *Salmonella* las cuales aparecen de una coloración negra ya que metaboliza el tiosulfato para producir sulfuro de hidrógeno.

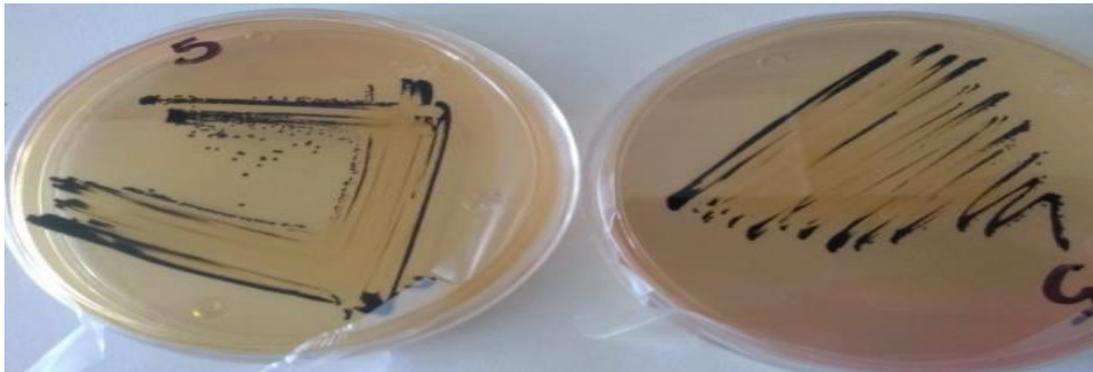


Figura 1 *Salmonella* serotipo Typhimorium ATCC140028



Figura 2. *Salmonella* serotipo Typhi 151H



Figura 3. *Salmonella* serotipo Enteritidis ATCC140028

VI.5 Preparación de bactericidas

Los bactericidas agrícolas utilizados: Kasumin (kasugamicina), Terramicina Agrícola 5% (clorhidrato de oxitetraciclina), Agry-Gent Plus 5000 (gentamicina + oxitetraciclina), Hidrobacter (sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina) y Comet (sulfato de cobre pentahidratado), los cuales serán diluidos en 60 mL de agua destilada estéril (cuadro 1).

Cuadro 1. Bactericidas de uso agrícola usados en la presente investigación y su preparación para el ensayo *in vitro*.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Clasificación FRAC (2022).	Dosis comercial	Dosis en 60 mL de agua destilada estéril
Kasumin	Kasugamicina	24 (D3)	10 mL/L	0.6MI
Terramicina Agrícola 5%	Clorhidrato de oxitetraciclina	41 (D5)	0.2g/L	0.12g
Agry-Gent Plus 5000	Gentamicina + oxitetraciclina	41 (D5)	0.8g/L	0.48g
Hidrobacter	Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	41(D5)	3.5g/L	0.2g
Comet sulfato de cobre	Sulfato de cobre pentahidratado	M01	0.25g/L	0.15g

Cada uno de los bactericidas fueron diluidos con 60 mL de agua destilada estéril en matraces, así como el testigo con la misma cantidad; a cada vaso de precipitado se le

agregaron discos de papel filtro (de aproximadamente 5 mm) los cuales tuvieron un tiempo de contacto de 10 minutos.



Figura 4. Bactericidas empleados (1) Kasumin (kasugamicina), (2) Terramicina Agrícola 5% (clorhidrato de oxitetraciclina), (3) Agry-Gent Plus 5000 (gentamicina + oxitetraciclina), (4) Hidrobacter (sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina), (5) Comet sulfato de cobre (sulfato de cobre pentahidratado).

VI.6 Prueba de sensibilidad Método de antibiograma de discos (Kirby-Bauer)

Para cada ensayo se realizaron las evaluaciones del efecto inhibitor de cada tratamiento con 5 repeticiones por cada cepa.

La sensibilidad de las tres cepas de *Salmonella* con no más de 24 horas de incubación se evaluó con la metodología de Kirby-Bauer que consiste en utilizar los discos de papel whatman del No 5 de 0.5 cm de diámetro e impregnados con cada bactericida por separado, y se confrontaron contra cada cepa. Para tal fin, en la caja de medio agar nutritivo fueron sembradas por separado cada cepa con la técnica de siembra masiva de modo que se forme un césped bacteriano, de tal forma que ocupe el total del área de la caja, inmediatamente se colocó cada sensidisco previamente impregnado con los bactericidas, y un testigo (agua destilada esterilizada) con un tiempo de contacto de 10 minutos, sobre el medio sembrado. Todo dentro de la campana de flujo laminar para evitar contaminación. Todas las cajas se incubaron a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

VI.7 Variables evaluadas

Posteriormente al tiempo de incubación (24 y 72 horas) se analizó el halo de inhibición, con ayuda de un vernier regla y sobre un fondo de contraste, tomando las mediciones del diámetro mostrado y en forma cruzada. En cada repetición por tratamiento se midió el diámetro del halo de inhibición (mm) que se utiliza como indicativo de la sensibilidad o la resistencia a cada bactericida



Figura 5 Medición del halo de inhibición pasados 24hrs. del tratamiento.



Figura 6 Forma de medición del halo de inhibición pasados 78hrs. del tratamiento

VI.8 Análisis de datos

Los datos de diámetro de inhibición que ejerció cada bactericida se sometieron a un análisis de varianza, bajo un diseño completamente al azar con cinco repeticiones, en el programa SAS. En caso de que el análisis arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a realizar el análisis de Separación de Medias con la prueba de Tukey al 0.05%.

VII. RESULTADOS

Las tres cepas evaluadas mostraron activación de crecimiento previo a la realización del ensayo, por lo que la viabilidad fue adecuada y se procedió a su confrontación con los bactericidas de uso agrícola, como a continuación se indica:

Primera evaluación (24 horas después de la inoculación)

El análisis de varianza indicó que se careció de diferencia significativa en las parcelas grandes, correspondientes a las cepas de *Salmonella* evaluadas (cuadro 3), indicativo que las tres cepas se comportaron de la misma forma con respecto a cada uno de los tratamientos aplicados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y cinco tratamientos más un testigo, bajo un diseño de parcelas divididas, a las 24 horas después del establecimiento del ensayo.

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bacteria	2	0.03105556	0.01552778	1.02	0.3673 ^{n.s.}
Bloque	4	0.05600000	0.01400000	0.92	0.4593 ^{n.s.}
Bacteria*Bloque	8	0.17533333	0.02191667	1.44	0.1998 ^{n.s.}
Bactericida	5	42.72613889	8.54522778	560.55	<.0001**
Bacteria*Bactericida	10	0.34294444	0.03429444	2.25	0.0263*
Coeficiente de Variación	19.71989				

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

Respecto al factor de cepas bacterianas, las tres mostraron un comportamiento similar en su sensibilidad ante los diferentes tratamientos siendo la cepa Enteritidis con mayor halo de inhibición seguida de Typhi 151H, mientras que la cepa Typhimorium ATCC140028 fue la que expresó un menor halo de inhibición. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de *Salmonella* ante cinco tratamientos y un testigo a 24 horas.

Cepa de <i>Salmonella</i>	Media (mm)
Enteritidis	0.64667
Typhi 151H	0.63000
Typhimorium ATCC140028	0.60167

*Valores Medios obtenidos de cuatro repeticiones.

Sin embargo, para los tratamientos evaluados, se presentó alta diferencia significativa, por lo que se procedió a su separación de medias.

La prueba de separación de medias para el factor bactericida indicó que en Agry-Gent Plus 5000 (gentamicina + oxitetraciclina) se formó el mayor halo de inhibición del crecimiento en las tres cepas, seguido de Hidrobacter (sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina) y finalmente en menor área de inhibición se formó en Comet (sulfato de cobre pentahidratado). Caso contrario los bactericidas Kasumin (kasugamicina) y Terramicina Agrícola 5% (clorhidrato de oxitetraciclina) que no expresaron efecto inhibitorio en las tres cepas bacterianas, su comportamiento fue estadísticamente similar al testigo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Separación de medias en el halo de inhibición (mm) para el factor bactericida en las tres cepas de *Salmonella* a las 24 horas de la siembra.

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.72667	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.29667	b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.73333	c
Kasugamicina	0.0000	d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.0000	d
Testigo	0.0000	d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

***Salmonella* Typhi 151H**

En el análisis de varianza realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa,s e determinó que en la cepa 151H se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 5).

Cuadro 5 Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella* Typhi 151H a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	14.11900000	2.82380000	161.75	<.0001**
Error	24	0.41900000	0.01745833		
Total correcto	29	14.53800000			
Coeficiente de Variación	20.97				
Bactericida	5	14.11900000	2.82380000	161.75	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

La separación de medias mostró que gentamicina + oxitetraciclina (Agry-gent Plus 500) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terrmicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella* Typhi 151H

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.72000	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.28000	b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.78000	c
Kasugamicina	0.00000	d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000	d
Testigo	0.00000	d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

***Salmonella* Enteritidis**

En el análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa, a través de un análisis de bloques completos al azar, se determinó que en la cepa Enteritidis se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos. (Cuadro 7).

Cuadro 7 Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella* Enteritidis a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	15.48766667	3.09753333	110.63	<.0001**
Error	24	0.67200000	0.02800000		
Total correcto	29	16.15966667			
Coefficiente de Variación	25.87608				
Bactericida	5	15.48766667	3.09753333	110.63	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

La separación de medias mostró que el bactericida gentamicina + oxitetraciclina (Agri-Gent Plus 500) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumkin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella* Enteritidis.

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.7100	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.4900	a
Sulfato de cobre pentahidratado	0.6800	b
Kasugamicina	0.00000	c
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000	c
Testigo	0.00000	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

***Salmonella* Typhimorium ATCC140028.**

En el análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa, a través de un análisis de bloques completos al azar, se determinó que en la cepa Typhimorium ATCC140028 se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella* Typhimorium ATCC140028 a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.46241667	2.69248333	1174.90	<.0001**
Error	24	0.05500000	0.00229167		
Total correcto	29	13.51741667			
Coefficiente de Variación	7.956458				
Bactericida	5	13.46241667	2.69248333	1174.90	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

La separación de medias mostró que el bactericida gentamicina + oxitetraciclina (Agri-Gent Plus 5000) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 10).

Cuadro 10. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella Typhimorium* ATCC140028

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.7100	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.4900	a
Sulfato de cobre pentahidratado	0.6800	b
Kasugamicina	0.00000	c
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000	c
Testigo	0.00000	c

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Segunda evaluación (72 horas después de la inoculación)

En esta evaluación, el análisis indicó alta significancia entre los diferentes tratamientos evaluados con las tres cepas de *Salmonella* por lo que al menos un tratamiento se comportó diferente. Pero entre cepas el análisis estadístico indicó un comportamiento similar (Cuadro 11).

Cuadro 11. Resultados del análisis de varianza considerando tres cepas y 5 tratamientos más un testigo, bajo un diseño al azar, a las 72 horas después del establecimiento del ensayo.

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Bacteria	2	0.00266667	0.00133333	0.12	0.8868 ^{n.s.}
Bloque	4	0.08927778	0.02231944	2.02	0.1037 ^{n.s.}
Bacteria*Bloque	8	0.11122222	0.01390278	1.26	0.2839 ^{n.s.}
Bactericida	5	40.11200000	8.02240000	724.37	<.0001**
Bacteria*Bactericida	10	0.15933333	0.01593333	1.44	0.1858 ^{n.s.}
Coeficiente de Variación	17.44		273		

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

La separación de medias para el factor cepa, indicó que Enteritidis obtuvo un halo con mayor inhibición seguida de Typhimorium ATCC140028, mientras que Typhi 151H fue la que expresó un menor halo de inhibición-(Cuadro 12), e incluso menor al determinado en el muestreo a las 24 horas (Cuadro 3).

Cuadro 12 Valores medios del halo inhibición expresado para el factor cepas de *Salmonella* ante cinco tratamientos y un testigo a 72 horas.

Cepa de <i>Salmonella</i>	Media (mm)	
Enteritidis	0.61000	a
Typhimorium ATCC140028	0.60333	a
Typhi 151H	0.59667	a

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

En la separación de medias para el factor bactericida se encontró que estos no presentaron una diferencia de inhibición en términos estadísticos, siendo Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola), los cuales tuvieron un comportamiento similar al testigo. Sin embargo, el mayor efecto inhibitorio, en términos numéricos, se observó con el bactericida Gentamicina + oxitetraciclina (Agri-Gent Plus 5000) seguido de Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter) y finalmente en menor cantidad, el Sulfato de cobre pentahidratado (Comet) (Cuadro 13), siendo también que se mostró una disminución en el halo de inhibición en comparación a lo reportado en la primera fecha de evaluación (Cuadro 4).

Cuadro 13. Separación de medias en el halo de inhibición (mm) para el factor bactericida en las tres cepas de *Salmonella* a las 72 horas de la siembra.

Bactericida	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.70333	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.20333	b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.71333	c
Kasugamicina	0.0000	d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.0000	d
Testigo	0.0000	d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Salmonella Typhi 151H

En el análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa, a través de un análisis de bloques completamente aleatorios pasadas 72 horas de la siembra, se determinó que en la cepa 151H se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 14).

Cuadro 14 Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella Typhi 151H* a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.08666667	2.61733333	294.91	<.0001**
Error	24	0.21300000	0.00887500		
Total correcto	29	13.29966667			
Coeficiente de Variación	15.78				
Bactericida	5	13.08666667	2.61733333	294.91	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo

La separación de medias mostró que el bactericida Gentamicina + oxitetraciclina (Agri-gent 5000) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 15). siendo también que se mostró una disminución en el halo de inhibición en comparación a lo reportado en la primera fecha de evaluación (Cuadro 6).

Cuadro 15. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella* Typhi 151H

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.67000	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.22000	b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.69000	c
Kasugamicina	0.00000	d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000	d
TESTIGO	0.00000	d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

***Salmonella* Enteritidis**

En el análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa, a través de un análisis de bloques completos al azar, se determinó que en la cepa Enteritidis se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 16).

Cuadro 16 Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella* Enteritidis a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.61200000	2.72240000	113.63	<.0001**
Error	24	0.57500000	0.02395833		
Total correcto	29	14.18700000			
Coeficiente de Variación	25.37456				
Bactericida	5	13.61200000	2.72240000	113.63	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); ^{n.s.} No significativo

La separación de medias mostró que el bactericida Gentamicina + oxitetraciclina (Agri - GentPlus 5000) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina (Kasumin) + clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 17) siendo también que se mostró una disminución en el halo de inhibición en comparación a lo reportado en la primera fecha de evaluación (Cuadro 8).

Cuadro 17. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella* Enteritidis.

Tratamiento	Media (mm)
Gentamicina + oxitetraciclina	1.67000 a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.30000 b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.69000 c
Kasugamicina	0.00000 d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000 d
TESTIGO	0.00000 d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

Salmonella Typhimorium ATCC140028.

En el análisis realizado para conocer el efecto de cada uno de los bactericidas de forma específica por cepa, a través de un análisis de bloques completos al azar, se determinó que en la cepa Typhimorium ATCC140028 se encontró alta diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 18).

Cuadro 18. Resultado de análisis de varianza para la variable sensibilidad de *Salmonella Typhimorium ATCC140028* a diferentes bactericidas de uso agrícola.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	13.57266667	2.71453333	846.09	<.0001**
Error	24	0.07700000	0.00320833		
Total correcto	29	13.64966667			
Coeficiente de Variación	9.388202				
Bactericida	5	13.57266667	2.71453333	846.09	<.0001**

**Altamente significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); n.s. No significativo.

La separación de medias mostró que el bactericida Gentamicina + oxitetraciclina (Agri gent Plus 5000) fue el que mayor halo inhibitorio expresó en esta cepa, seguido del bactericida Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina (Hidrobacter), y finalmente por Sulfato de cobre pentahidratado (Comet). Los Bactericidas Kasugamicina (Kasumin) y Clorhidrato de oxitetraciclina (Terramicina Agrícola) no mostraron ningún efecto de inhibición mostrando un comportamiento similar al testigo (Cuadro 19) e incluso mayor al determinado en el muestreo a las 24 horas (Cuadro 10) a excepción de Hidrobacter (Sulfato de Kanamicina+Clorhidrato de oxitetraciclina) que mostró un halo menor.

Cuadro 19. Separación de medias del efecto inhibitorio de los tratamientos a la cepa de *Salmonella Typhimorium* ATCC140028

Tratamiento	Media (mm)	
Gentamicina + oxitetraciclina	1.77000	a
Sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina	1.09000	b
Sulfato de cobre pentahidratado	0.76000	c
Kasugamicina	0.00000	d
Clorhidrato de oxitetraciclina	0.00000	d
Testigo	0.00000	d

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$).

VIII. DISCUSIÓN

Desde 1950 los antibióticos han servido como control de diferentes enfermedades en plantas, tiempo después que la medicina humana, se han utilizado durante décadas en cultivos como manzanas y peras siendo considerados como “fármacos milagrosos” efectivos para controlar las enfermedades de las plantas, especialmente, después de haberse demostrado que son un medio eficaz para controlar algunas bacterias, por ejemplo *Erwinia amilovora*. Se ha reportado que su uso se extiende en todo el mundo, sin embargo aún no se tiene mucha información y su estudio es en gran parte desconocido (EPAGRO, 2020).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los logrados por Moran (2021), quien determinó que el bactericida de uso agrícola Agry-Gent Plus 5000 (gentamicina + oxitetraciclina) logra inhibir el desarrollo de la bacteria *E. coli*.

La gentamicina es un antibiótico que se administra principalmente para controlar enfermedades por bacterias Gram negativas, logrando una alta eficacia al combatir infecciones por *Salmonella*, su mecanismo de acción es unirse a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, por consecuencia impide la transcripción del DNA y por tanto, la síntesis de proteínas se ve afectada (VADECUM, 2014). Junto con el Clorhidrato de Oxitetraciclina, impide la fijación de ARN de transferencia sobre el ARN mensajero de la bacteria además de interferir en la síntesis de proteínas (Zabriskie, 2021).

CABI (2020) estima que anualmente 63 toneladas de estreptomomicina y 7 de tetraciclina (ambos antibióticos de importancia crítica en medicina humana) solo en el sudeste asiático se rocían en cultivos de arroz. Si bien los antibióticos son usados principalmente por su

acción contra enfermedades bacterianas, existe una proporción alarmante de recomendaciones que contienen antibióticos contra otros problemas de cultivo en los que el antibiótico no tendrá efecto (EPAGRO, 2020).

El uso de antibióticos en animales domésticos es muy común, así como en piscifactorías, e incluso se utilizan de forma espolvoreada en cultivos y huertos frutales con el fin de combatir infecciones que afectan a los animales y plantas destinados a la alimentación. Estos medicamentos (que pueden salvar vidas) son añadidos a los piensos de una manera rutinaria en los piensos (mezcla que con el fin de lograr un alimento nutritivo se elabora de vegetales y/o animales y/o minerales, transformadas), para evitar infecciones y que los animales ganen peso sanamente incluso cuando los animales ya están sanos (FAO, 2018). Sin embargo, las actividades humanas como es la ganadería aportan a la agricultura una gran cantidad de antibióticos, esto mediante las excretas emitidas que contienen una gran cantidad de antimicrobianos lo que influyen en el crecimiento de las plantas (dependiendo de la especie) y en la microflora del suelo (Pérez y Lacuesta, 2019).

La estreptomicina, kasugamicina, oxitetraciclina y el ácido oxolínico, entre otros antibióticos, son de gran importancia a la hora de tratar y controlar enfermedades en las plantas (FAO, 2018). A la fecha, no se tiene reportes sobre el uso de antibióticos de uso agrícolas contra *Salmonella* presente en plantas.

Lagos (2021) indica que el bactericida de uso agrícola con mayor eficiencia de control *in vitro* contra cepas de *E. coli* fue gentamicina, que concuerda con los resultados encontrados en el presente trabajo, por lo que este bactericida resulta eficiente para ser utilizado como alternativa química en el manejo de cepas de *E. coli* y *Salmonella* cuando se tenga sospecha de una contaminación microbiana en hortalizas, frutales y otros

productos de origen agrícola; por lo que este bactericida de uso agrícola mostró efecto de control en las bacterias Gram negativas de origen humano.

Un punto a destacar es que hidrobacter y sulfato de cobre también inhibieron tanto las tres cepas de *E. coli* como las tres cepas de *Salmonella* evaluadas en el presente estudio.

Al tener estas opciones de manejo químico de patógenos de importancia para la inocuidad alimentaria, bajo condiciones de productos usados en campo, es necesario realizar su manejo bajo un esquema de rotación de sitios o mecanismos de acción tal como se indica en el FRAC (2022) con la finalidad de reducir el tiempo de generación de resistencia tanto en este tipo de bacterias como en aquellas que causan enfermedades en las plantas.

Por otro lado, terramicina resultó eficiente para inhibir el crecimiento de cepas de *E. coli* (Lagos, 2021), pero no mostro efecto alguno ante las tres cepas de *Salmonella*, a pesar de ser un antibiótico de amplio espectro (Zoetis, 2022).

En contraste el bactericida kasumin no mostro efecto alguno en la inhibición de las cepas de *Salmonella*, concordando con lo determinado por Lagos (2021) quien indica que no mostro ningún efecto ante cepas de *E. coli.*, por lo que resulta poco promisorio su uso cuando se sospeche de algun riesgo de inocuidad microbiológica.

Otro de los factores que se deben de tener en cuenta al hacer uso de antibióticos en agricultura, es evitar su presencia después de la cosecha, ya que los residuos de antimicrobianos han sido documentados en ecosistemas influenciados por actividades tanto urbanas como agrícolas. Asimismo, los ARG (Genes de Resistencia a Antibióticos) y las bacterias (específicamente, los organismos zoonóticos) con resistencia a antimicrobianos es posible detectarlos en aguas superficiales, suelos, alimentos para animales y plantas comestibles en todo el mundo (FAO, 2018).

Finalmente, la generación de resistencia antimicrobiana ha sido indicada como uno de los grandes inconvenientes al usar antibióticos en la lucha contra bacterias de origen vegetal y humano ya que antibióticos y bacterias resistentes, pueden permanecer en los cultivos ingresando a la cadena de producción alimentaria por malas praxis, especialmente en alimentos que se consumen en crudo . Además, posterior a la diseminación, a una buena parte de los antibióticos les es posible permanecer en el suelo (SCIDEVNET, 2020).

El uso correcto y controlado, así como el manejo de la resistencia por sitios de acción, tal como lo marcan los proveedores de agroquímicos son la clave para evitar que los patógenos generen resistencia ya que, al utilizar dosis incorrectas en un mismo sitio de acción de manera continua, se crea un desbalance en el manejo de la bacteria; por lo que siempre es importante leer las etiquetas de cada producto para conocer sus alcances , dosis y modo correcto de aplicación

IX. CONCLUSIÓN

AGRIGENT PLUS 5000 (Gentamicina + Oxytetraciclina) mostró el mayor efecto inhibitorio a las tres cepas de *Salmonella* spp. (Enteritidis, Typhi 151H y Typhimorium ATCC140028).

HIDROBACTER (sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina) y Comet (sulfato de cobre pentahidratado) mostraron poca efectividad, con una menor proporción de inhibición a las tres cepas de *Salmonella* spp.

KASUMIN (Kasugamicina) y TERRAMICINA AGRÍCOLA (Clorhidrato de Oxitetraciclina) mostraron una respuesta nula de inhibición a las tres cepas de *Salmonella* spp., similar al testigo.

La cepa Enteritidis expresó el mayor halo de inhibición tanto en los diferentes bactericidas como en las dos técnicas evaluadas.

X. BIBLIOGRAFÍA

Argentina.gob.ar. 2022 ¿Qué es la inocuidad alimentaria? Disponible en:

<https://www.argentina.gob.ar/anmat/comunidad/que-es-la-inocuidad-alimentaria> Fecha de consulta: agosto 2022.

Arysta (Arista Life Science México). 2018. Ficha técnica Kasugamicina. Disponible en:

https://mx.uplonline.com/download_links/riVk5AEcOILR4TJmg7xnVEbEBIfcFmxdA9a2p8dQ.pdf Fecha de consulta: marzo de 2022.

Agristar México 2020. Ficha técnica Hidrobacter (RSCO-MEZC-1390-0652-002-6.80).

de <https://agristar.com.mx/catalogsearch/result/?q=hidrobacter> Fecha de consulta: marzo de 2022.

Bada-Alamedji R, A Fofana, M Seydi, A J Akakpom (2006) Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated from Poultry Carcasses in Dakar (Senegal). Brazil. J. Microbiol. 37:510-515. Fecha de consulta: marzo de 2022.

CABI (Centro de Biociencia Agrícola Internacional). 2020. New study reveals use of

antibiotics on crops is more widespread than previously thought. Disponible en: <https://www.cabi.org/news-article/new-study-reveals-use-of-antibiotics-on-crops-is-more-widespread-than-previously-thought/> Fecha de consulta: mayo 2022.

Calvo 2009. Mecanismos de acción de los antimicrobianos Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. ELSEVIER. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-mecanismos-accion-antimicrobianos-S0213005X08000177> Fecha de consulta: marzo de 2022.

CDC 2020. La *Salmonella* y los alimentos. Centers for Disease Control and Prevention. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/salmonella-and-food-sp.html#:~:text=La%20Salmonella%20es%20una%20bacteria,una%20infecci%C3%B3n%20y%20enfermarse%20gravemente> Fecha de consulta: marzo de 2022.

CDC 2002. Multistate Outbreaks of Salmonella Serotype Poona Infections Associated with Eating Cantaloupe from Mexico --- United States and Canada, 2000--2002. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5146a2.htm> Fecha de consulta: marzo 2022.

EPAGRO (Europa Press Agronomic) 2020. El uso de antibióticos en cultivos está más extendido de lo que se pensaba. Disponible en: <https://www.europapress.es/epagro/noticia-uso-antibioticos-cultivos-mas-extendido-pensaba-20200623072927.html> Fecha de consulta: mayo 2022.

FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2003. Capítulo 4. Aspectos higiénicos y sanitarios. FAO. Disponible en: <https://www.fao.org/3/y4893s/y4893s07.htm> Fecha de consulta: marzo de 2022.

FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) 2018. Los agricultores, en primera línea contra la resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: <https://www.fao.org/news/story/es/item/1170073/icode/> Fecha de consulta: mayo de 2022.

Figueroa O. y Verdugo R. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. Rev Latinoam Microbiol; 47 (1-2): 25-42. Fecha de consulta: marzo de 2022.

FRAC (Fungicides Resistance Action Comite). 2023. FRAC Code List. Disponible en: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022--final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2. Fecha de consulta: Abril de 2023.

Gálvez G. G. T., Sánchez, S. M. R., Parra, C. F., García, P. J., Aviña, M., G.N. y Villalobos, S. 2018. Pesticides in Mexican Agriculture and promissory65 alternatives for their replacement. Revista Biológico-Agropecuaria Tuxpan 7 (11): 1977-1991. Fecha de consulta: marzo de 2022.

GOB. MX (Gobierno de México). 2016. Una definición clara de Inocuidad. Disponible en: <https://www.gob.mx/senasica/articulos/una-definicion-clara-de-inocuidad-70674?idiom=es>. Fecha de consulta: agosto de 2022.

Herrera 1999. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana, metodología de laboratorio. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010. Fecha de consulta: agosto de 2022.

Ivami S. 2014. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Cultivo, PCR; Anticuerpos frente a antígenos O y H; Tipado antigénico molecular; Comparación molecular de cepas. Disponible en: <https://www.ivami.com/es/microbiologia-veterinaria-molecular/592-salmonella-enterica-subsp-enterica-tipado-antigenico-molecular-otras-pruebas-cultivo-pcr-anticuerpos-frente-a-antigenos-o-y-h-comparacion-molecular-de-cepas#:~:text=Actualmente%2C%20s%C3%B3lo%20se%20admiten%20odos,bongori%2C%20con%20una%20C3%BAnica%20subespecie>. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Matthews K. R. 2008. Los microorganismos asociados a las frutas y a las verduras. En: Microbiología de frutas y verduras. Zaragoza: Ed. Acribia, S.A; Fecha de consulta: marzo de 2022.

Mayo Clinic. 2019. Infección por salmonella - Síntomas y causas. MAYO CLINIC. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329>. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Mei S., Jan, B., Richard, N. 2013. Perceptual and Actual Risks and How We Communicate Them, pp. 189-208. In: S. Mei, B. Jan, and N. Richard (eds.). Managing Food Safety Risks in the Agri-Food Industries. CRC Press. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Miko A, K Pries, A Schroetes, R Helmuth. 2005. Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant ser. of Salmonella enterica isolated from foods in Germany. J. Antimicrobial Chem. 56:1025-1033. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Morales-Espinosa R. 2020. Patrones de susceptibilidad antimicrobiana “in vitro” de bacterias Gram negativas aisladas de infección de vías urinarias en pacientes ambulatorios de una clínica del sur de la Ciudad de México. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2020000200005. Fecha de consulta: agosto de 2022.

NCBI (National Center of Biotechnology). 2004. *Salmonella* Serovars from Humans and Other Sources in Thailand, 1993–2002. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3322742/> Fecha de consulta: marzo de 2022.

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2021. Inocuidad de alimentos. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/inocuidad-alimentos> Fecha de consulta: abril de 2022.

OPS (Organización Panamericana de la Salud), 2023. ANEXO G: Factores determinantes de las enfermedades transmitidas por alimentos. factores de contaminación, supervivencia y multiplicación. Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10808:2015-anexo-g-factores-determinantes-alimentos&Itemid=0&lang=es#gsc.tab=0. Fecha de consulta: Abril de 2023.

Perez, L.U. y Lacuesta, C. M. 2019. ¿Qué papel tiene la agricultura en la transmisión de la resistencia a antibióticos?. Disponible en: <https://theconversation.com/que-papel-tiene-la-agricultura-en-la-transmision-de-la-resistencia-a-antibioticos-126369>. Fecha de consulta: 28 de Mayo de 2023.

Portal Teccno Agrícola. 2022. Represor. Disponible en: <https://www.buscador.portalteccnoagricola.com/vademecum/mex/producto/17870/REPRESOR?pagina=Plaga%20vulgar>. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Puig Peña Y, Espino-Hernández M, Leyva-Castillo V, Aportela-López N, Machín-Díaz M, Soto-Rodríguez P. 2011. Serovariedades y patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos de cepas de *Salmonella* aisladas de alimentos en Cuba. Rev Panam Salud Publica 30(6):561-565.

Puig P., Leyva C. V., Rodríguez S. A., Carrera V. J., Molejón P. L., Yoldrey P. M., Dueñas M. O. 2014. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. Fecha de consulta: marzo de 2022.

Sanchez J. D. 2022. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). OPS (Organización Panamericana de la Salud). Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es#gsc.tab=0. Fecha de consulta: agosto de 2022.

SCIDEVNET. 2020. “Alarmante” uso de antibióticos humanos en agricultura. América Latina y El Caribe. Disponible en: <https://www.scidev.net/america-latina/feature/alarmante-uso-de-antibioticos-humanos-en-agricultura/#:%7E:text=%E2%80%9Caltamente%20importante%E2%80%9D,-.Los%20antibi%C3%B3ticos%2C%20y%20las%20bacterias%20resistentes%2C%20pueden%20permanecer%20en%20los,en%20el%20suelo%20sin%20desgastarse>. Fecha de consulta: mayo de 2022.

Sumit Agro. 2018. Agri-Gent plus 5000. Disponible en: <https://sumitagromexico.com/productos/informacion/agry-gent-plus-5000/> Fecha de consulta: marzo de 2022.

UNAM (Universidad Nacional Autónoma del México). 2018. Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana en México. Disponible en: http://www.puis.unam.mx/slider_docs/reporte-ucradigital.pdf. Fecha de consulta: agosto de 2022.

VADECUM. 2014. Gentamicina. Disponible en:

<https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/g004.htm>. Fecha de consulta:
agosto de 2022.

Vargas-Hernández G. 2015. Perfil de riesgos de contaminación microbiológica y química en la cadena de producción de nueve productos hortícolas para consumo fresco, de un grupo de empresas agrícolas del Valle Central de Costa Rica. Redalyc. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/journal/436/43642603008/html/>. Fecha de consulta:
marzo de 2022.

Villar I. R. 2019. Peligros Alimentarios. Alimentando la inocuidad. Disponible en:

<https://alimentandolainocuidad.com/peligros-alimentarios/#:%7E:text=Peligros%20bio%C3%B3gicos%3A%20bacterias%2C%20par%C3%A1sitos%2C,otro%20sustancia%20ajena%20al%20alimento>. Fecha de consulta: agosto 2022.

WHO. 2018. *Salmonella* (no tifoidea). Organización Mundial de la Salud. Disponible en:

[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)#:%7E:text=Salmonella%20es%20una%20de%20las,y%20del%20serotipo%20de%20Salmonella](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)#:%7E:text=Salmonella%20es%20una%20de%20las,y%20del%20serotipo%20de%20Salmonella). Fecha de consulta: marzo de 2022.

Zabriskie M. 2021. ENGEMYCIN® 10% L.A. Disponible en: <https://www.msd-salud-animal.mx/productos/engemycin-10-l-a-inyeccion/#:%7E:text=La%20oxitetraciclina%20es%20un%20antibi%C3%BA>

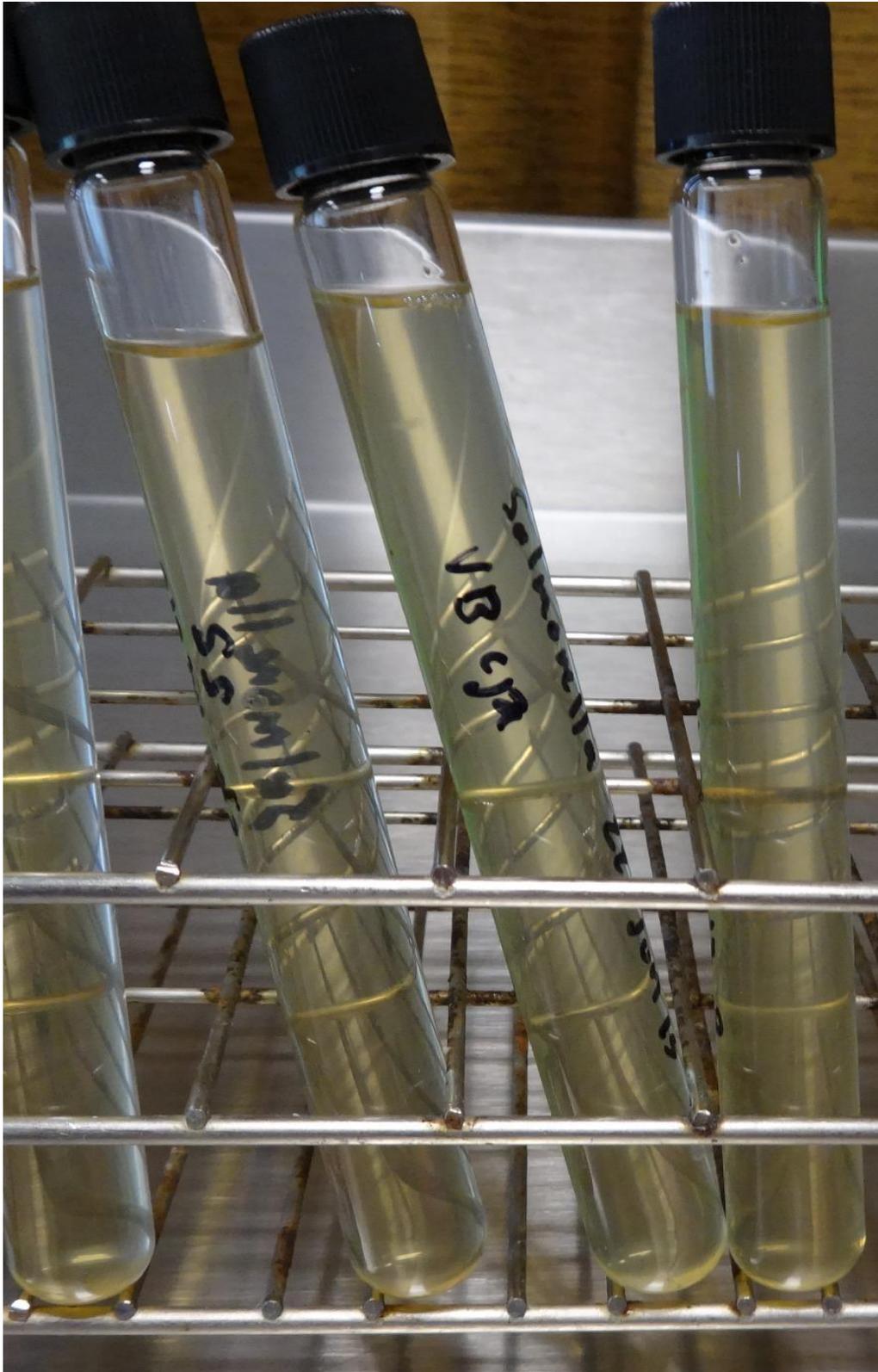
B3tico%20que%20pertenece%20al%20grupo%20de.%2C%20micoplasmas
%2C%20clamidias%20y%20espiroquetas. Fecha de consulta: agosto de
2022.

Zoetis MX. 2022. Terramicina Agrícola. Disponible en:
<https://www.zoetis.mx/products/agricola/terramicina-agricola.aspx> Fecha de
consulta: marzo de 2022.

XI. ANEXOS



ANEXO 1.-Tubos con la fuente de inóculo de *Salmonella*



ANEXO 2.-Cultivos de *salmonella*



ANEXO 3.- agar *salmonella* y *shigella*



ANEXO 4.- Incubación de cepas de *salmonella*



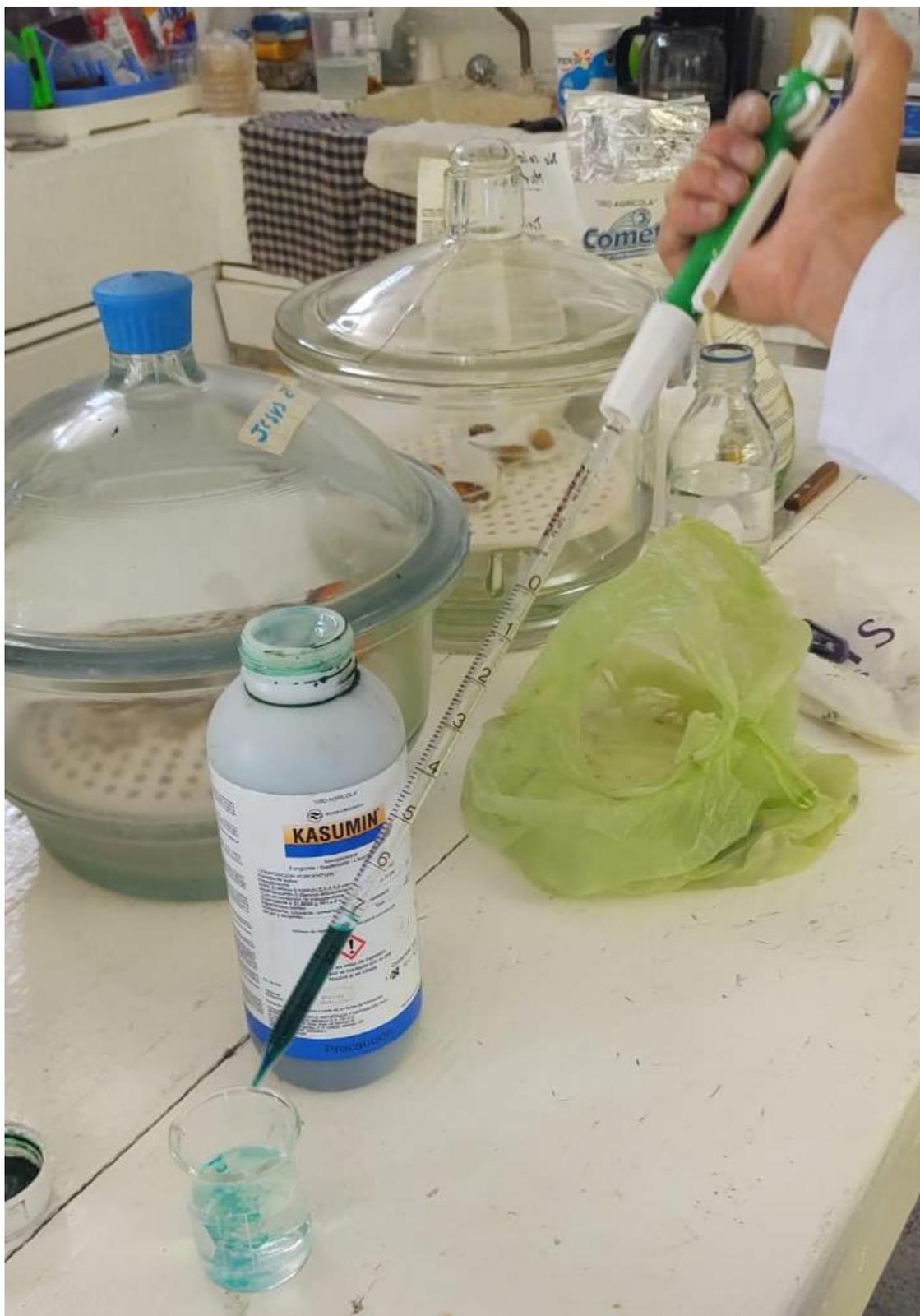
ANEXO.5.-Destapando el autoclave



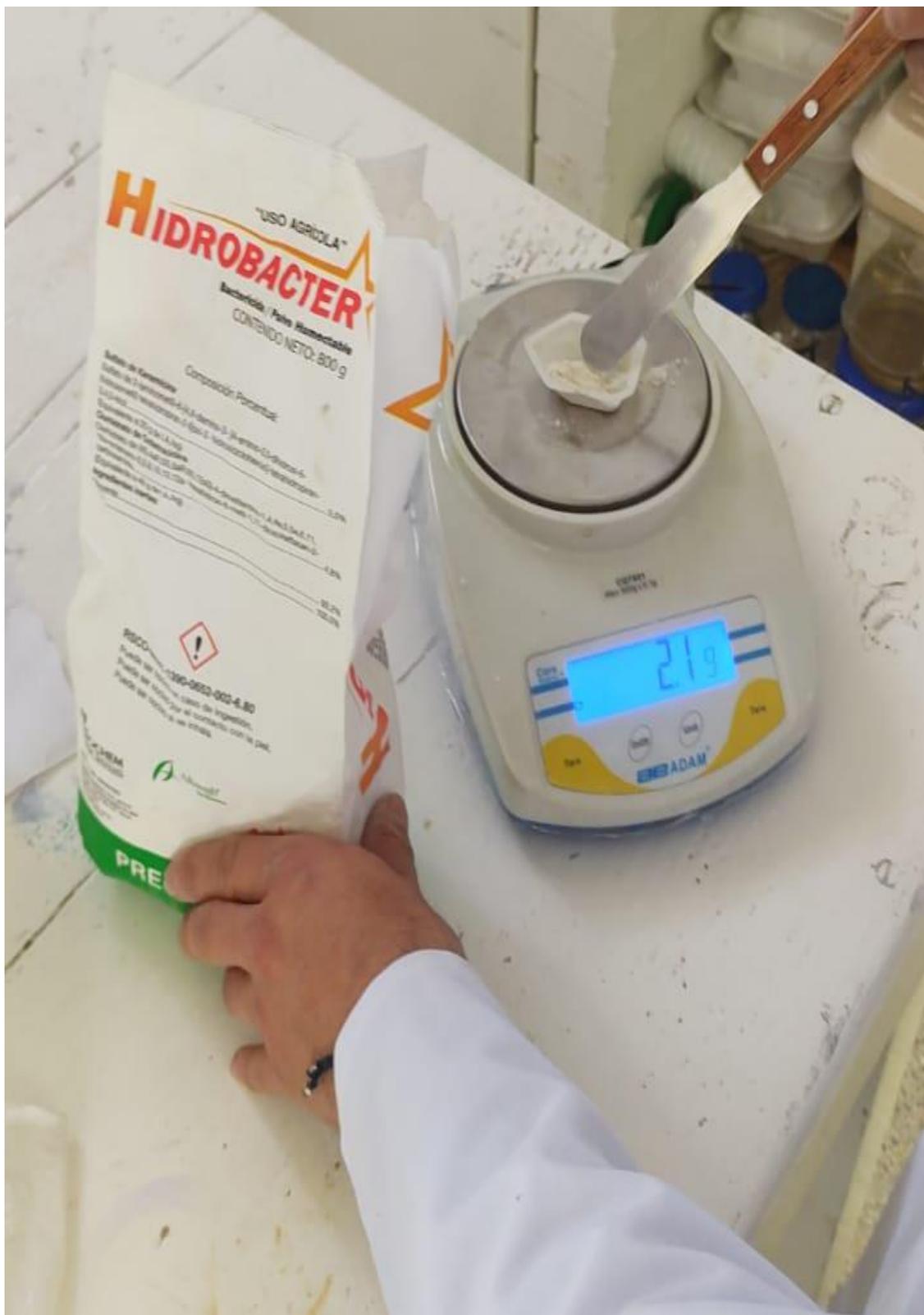
ANEXO 6.-Retirando frasco estéril con agua destilada del autoclave



ANEXO.7.-Preparación de agua estéril para diluir kasugamicina



ANEXO.8.-Preparación de kasugamicina en agua estéril



ANEXO.9.-Pesado de sulfato de kanamicina + clorhidrato de oxitetraciclina



ANEXO.10.-Pesado de sulfato de cobre pentahidratado



ANEXO 11.-Pesado de gentamicina + oxitetraciclina



ANEXO 12.-Pesado de terramicina agrícola 5%



ANEXO.13.-Mezcla de medio agar nutritivo en agitador magnético



ANEXO 14.-Preparación de cajas de Petri con médo agar nutritivo



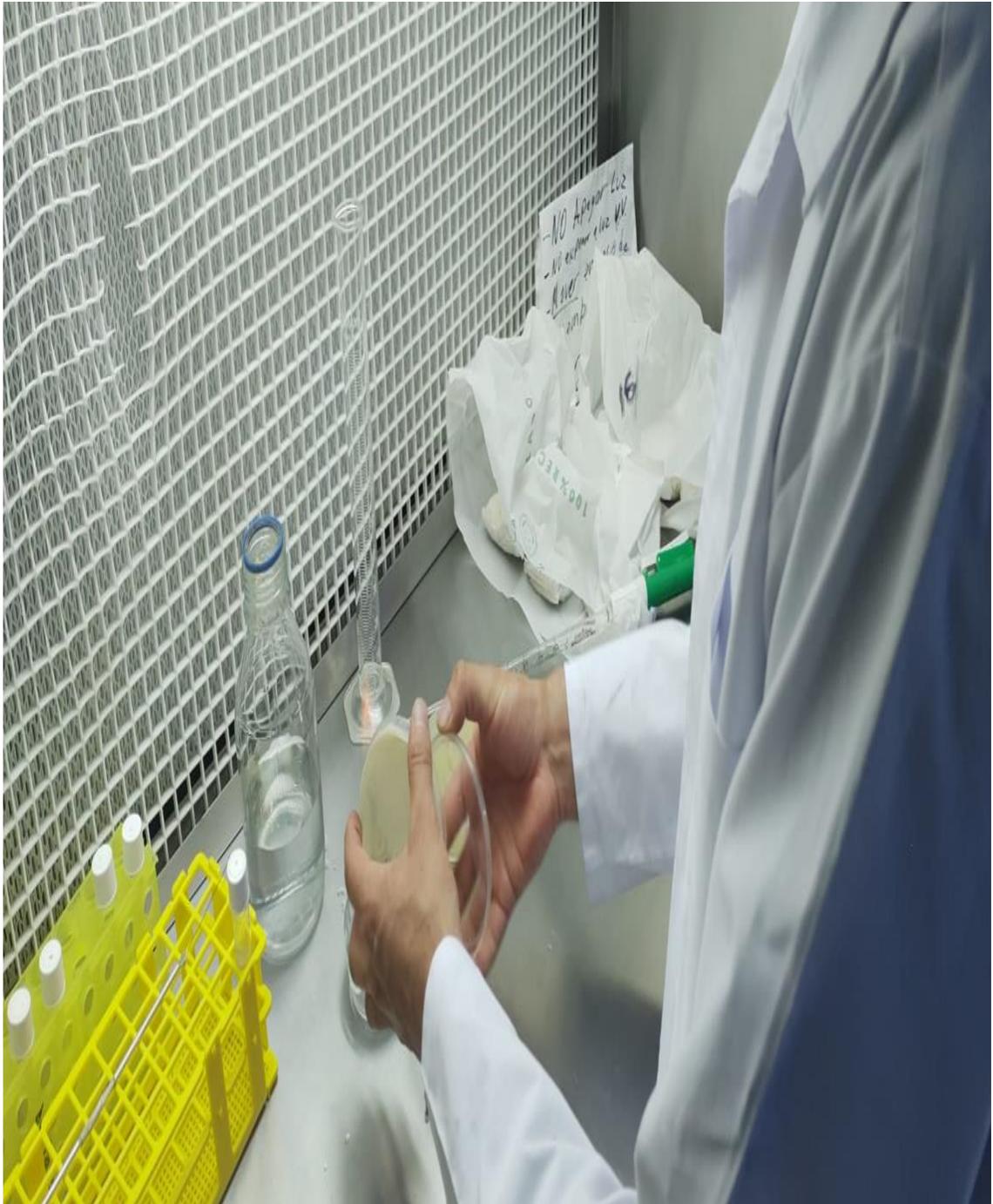
ANEXO 15.- Esterilización de aza de siembra con mechero de alcohol



ANEXO 16.- Realizando siembra de *salmonella* en cajas Petri



ANEXO 17.- Colocando los sensidiscos con bactericidas



ANEXO 18.-Cerrado estéril de cajas de Petri con siembra de *salmonella*



ANEXO 19.- Esterilizando las cajas para agruparlas



ANEXO 20.- Revisando que este correcta la siembra



ANEXO 21.- Colocando siembras con sensidiscos en incubadora