

## **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MORINGA OLEIFERA FRENTE A CEPAS DE SALMONELLA MULTIRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS DE CAMARÓN**

---

*David Tirado Torres*

Departamento de Ingeniería Civil, División  
de Ingenierías, Campus Guanajuato,  
Universidad de Guanajuato  
Guanajuato, Gto., México

*Eduardo Jahir Gutiérrez Alcántara*

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

*Carlos Armando Chan Keb*

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

*Román Alberto Pérez Balán*

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

*Jocelyn Gutiérrez Alcántara*

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



**José Luis Aragón Gastélum**

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

**Tomas Joel López Gutiérrez**

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

**Baldemar Ake Canché**

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

**Betty Sarabia Alcocer**

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,  
Universidad Autónoma de Campeche  
San Francisco de Campeche, Campeche,  
México

**Resumen: Introducción:** Campeche ocupa el sexto lugar a nivel nacional en captura de camarón. Actualmente la resistencia a antibióticos está declarada por la OMS como un emergente problema de salud pública, es por ello que se ha generado una búsqueda de antimicrobianos naturales como *Moringa oleífera* capaces de eliminar a microorganismos multiresistentes. **Objetivo:** Evaluar la actividad antimicrobiana de *M. oleífera* frente a cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos aisladas de camarón. **Métodos:** 50 muestras de camarón fueron colectadas y procesadas utilizando el método tradicional. El método Kirby-Bauer se empleó para los dendrogramas. Los extractos de *M. oleífera* se obtuvieron siguiendo la metodología de Tirado Torres y col., 2019. El método difusión en disco se utilizó para analizar la actividad antimicrobiana de *M. oleífera*. **Resultados:** *Salmonella* tuvo una prevalencia de 70%. Ampicilina fue el antibiótico menos eficaz con 95.75% de resistencia, en contraste ciprofloxacina 100 %, ceftriaxona 75%. El extracto etanólico presentó mayor efecto inhibitorio con halos de 20 mm, seguido del acuoso con 19 mm. **Conclusión:** Las muestras de camarón resultaron altamente contaminadas por *Salmonella*. Se encontraron cepas multiresistentes a antibióticos. Los resultados revelan que *M. oleífera* puede ser una alternativa para el control de las infecciones causadas por *Salmonella*.

**Palabras claves:** *Moringa oleífera*, *Salmonella*, camarón.

## INTRODUCCIÓN

Los camarones, como miembros de los crustáceos son artrópodos mandibulados con apéndices birrameados articulados, con dos pares de antenas, caparazón, branquias y larva nauplio. Los camarones en su estado adulto viven en mar abierto donde se reproducen y alcanzan una talla de entre 15 y 20 centímetros

de largo. El camarón por su volumen se encuentra posicionado en segundo lugar en cuanto a producción pesquera en México. En los últimos 10 años la producción de camarón ha tenido un crecimiento anual de 1.67%. Hablando de exportación el camarón es la especie pesquera con mayor demanda, siendo sus principales destinos Estados Unidos de América, Vietnam y Francia (Instituto Sinaloense de Acuicultura, 2009). A su vez, México ocupa el sexto lugar a nivel mundial aportando el 4% en 2006 con 180,495 toneladas, y esto lo convierte en el principal productor de camarón en el continente americano. A nivel nacional Campeche ocupa el sexto lugar en captura de camarón.

De igual manera se reconoce el papel de los alimentos como vehículo de microorganismo patógenos, *Salmonella* por ejemplo. Diferentes serotipos de *Salmonella* se han aislado en México a partir de distintos alimentos tanto cárnicos, lácteos, frutas, hortalizas y alimentos preparado, sin embargo, son muy pocos los estudios realizados en camarón (Cabrera-Díaz y col., 2013; Miranda y col., 2009). Otro problema que se presenta además de la mala calidad sanitaria de este crustáceo es la resistencia a antibióticos que tienen los patógenos. En un reporte publicado en meses recientes por la Organización Mundial de la Salud, se expresa la preocupación por el avance de la resistencia de las bacterias a los antibióticos, con las fatales consecuencias que están teniendo en la humanidad, y con las más que se podrían presentar al llegar a generarse bacterias resistentes a todos los antibióticos conocidos y no contar con alternativas para su control (OMS, 2015). El problema de la resistencia de las bacterias a los antibióticos radica no sólo en el hecho de la adquisición de resistencia, sino también por que con frecuencia estas bacterias se vuelven más virulentas y peligrosas para la población, con respecto a las bacterias no resistente.

Además de que existen evidencias científicas que sugieren que estas bacterias resistentes podrían adquirir resistencia cruzada contra factores como el pH, elevada temperatura, desecación, entre otro, lo que les permitiría por un lado tener una muy baja dosis infectante y por el otro, sobrevivir y persistir por más tiempo en el medio ambiente en comparación con las bacterias no resistente a antibióticos.

Las bacterias resistentes a antibióticos pueden llegar a los alimentos a partir de diferentes fuentes mediante distintos mecanismos de contaminación. No obstante, se reconoce que las principales fuentes de contaminación son la materia fecal de animales infectados y las aguas negras contaminadas con materia fecal.

Actualmente la resistencia a antibióticos está declarada por la OMS como un emergente problema de salud pública, es por ello que se ha generado una búsqueda de antimicrobianos naturales como *Moringa oleífera* capaces de eliminar a microorganismos multiresistentes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana de *M. oleífera* frente a cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos aisladas de camarón.

## METODOLOGÍA

Para el muestreo se compraron 250 g por cada muestra y se seleccionaron 5 de igual tamaño. Todas las muestras fueron colocadas en una bolsa ziploc estéril y fueron llevadas inmediatamente al laboratorio para ser analizadas. A cada muestra se le agregaron 500 ml de agua peptonada buferada y se agitó manualmente por 30 segundos, posteriormente se incubó durante 18 hr a 37°C, se procedió con el enriquecimiento utilizando los siguientes medios: base de caldo Tetrionato y caldo rappaport-vassiliadis, a los cuales se les inoculó 1 y 0.1 ml de muestra (agua peptonada) incubándose 24 hr a 42°C. Después de esto se tomó una

asada de los caldos sospechosos y se estrió en los medios selectivos: Agar XLD, Agar Sulfito Bismuto y Agar Verde Brillante, incubándose a 35°C por 24 a 48 hr. Se tomaron una o dos colonias sospechosas de estos medios y fueron sembradas en tubos con LIA y TSI incubándose 24 hr a 35°C. Las colonias presuntivas que resultaron de estos tubos fueron sembradas en caldo urea para descartar cepas sospechosas falsas. La prueba confirmativa se realizó con el antisero somático polivalente O y las cepas positivas fueron tomadas del medio LIA para ser purificadas en agar cuenta estándar.

### SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

Se determinó el perfil de resistencia a las cepas de *Salmonella* aisladas de las muestras, siguiendo la metodología de difusión en disco (Bauer y Col., 1966). Se purificaron las cepas almacenadas en caldo de soya tripticaseína y se incubaron 24 hr a 35°C. Posteriormente se tomaron 100 µl del inóculo, se sembró y se extendió con una varilla acodada en toda la superficie del agar Muller Hilton y se colocaron los discos con 10 µl de diferentes antibióticos.

### PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Los extractos de *Moringa oleífera* se obtuvieron siguiendo la metodología de Tirado Torres y col., 2019. Bajo condiciones asépticas, se pesaron las muestras (100 g) de *M. oleífera* seca, y fueron colocadas por separado en matraces estériles con 900 ml de etanol y acetato de etilo. Los matraces se cerraron herméticamente y se almacenaron a temperatura ambiente durante siete días con agitación manual una vez al día. Después del período de extracción, la fase líquida se filtró a través de papel de filtro. Estos extractos filtrados se concentraron en un roto evaporador. Los solventes (etanol y acetato de etilo) fueron eliminados de los concentrados, colocándolos en una incubadora de aire de recirculación

durante 24 hr a 45 ± 1 °C. Para el extracto acuoso se pesaron 100 g de *Moringa* seca y se colocaron en un matraz estéril al cual se le agregaron 900 ml de agua destilada, se calentó a ebullición durante 10 minutos y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. Después de este periodo de extracción, el agua se eliminó del concentrado como se describió anteriormente.

El método difusión en disco se utilizó para analizar la actividad antimicrobiana de *M. oleífera*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Salmonella* tuvo una prevalencia de 70%, de igual manera otros autores han confirmado una alta prevalencia (56.7% y 59.6%) de *Salmonella* en camarón fresco (Rahimi y Col., 2013; Hossain y Col., 2013). Esta alta incidencia puede ser el resultado de la contaminación durante la producción, y malas prácticas de higiene durante la manipulación, almacenamiento y puntos de distribución y venta. En 2008 se encontró en India una prevalencia de 34.4% de este patógeno en muestras de camarón, en Malasia se encontró un 37.5% de prevalencia (Shabarinath y Col., 2007; Kumar y Col., 2003).

También existen investigaciones donde se mencionan prevalencias de *Salmonella* en este crustáceo que van de 1.8% a 5.71%, las cuales son muy inferiores a nuestros resultados (64.1%) (Wan y Col., 2009).

Ampicilina fue el antibiótico menos eficaz con 95.75% de resistencia, de igual manera estreptomycin 86.76% y eritromicina 76.96%, de igual manera otros investigadores han observado resistencia de 100% (Shah y Korejo, 2012; Zalalen Addis y Col., 2011), datos que coinciden con nuestros resultados, sin embargo, se sugiere no prescribir ni automedicarse con este antibiótico, ya que solo se genera gasto económico con poco o nulo beneficio.

En contraste ciprofloxacina 100%, ceftriaxona 75% y tetraciclina 50%. Cloranfenicol presentó mayor porcentaje (55.39%) para cepas de sensibilidad intermedia, pero también se encontraron cepas resistentes (16.18%). De igual manera (Hossain y Col., 2013), también observaron cepas de *Salmonella* sensibles a ciprofloxacina. Se puede sugerir el uso de las fluoroquinolonas como ciprofloxacina en infecciones leves y severas ocasionadas por *Salmonella*, ya que su eficiencia arrojó un 100%.

El extracto etanólico presentó mayor efecto inhibitorio con halos de 20 mm, seguido del acuoso con 19 mm. Nuestros halos de inhibición coinciden con una investigación donde se estudio la actividad antimicrobiana de *M.oleífera* sobre *Salmonella typhimurium* y otros patógenos (Ruttarattanamongkol et al., 2015), ellos mostraron halos de 20 a 24 mm. De igual manera otros investigadores en 2016 encontraron buena capacidad antimicrobiana de *M. oleífera* sobre *Salmonella sp* (20mm) (Manikandan et al., 2016). Los halos obtenidos con el extracto de acetato de etilo fueron de 17mm. Los resultados de este estudio indican que el extracto etanólico tienen más capacidad antimicrobiana que el acuoso, esto puede ser atribuido a que hay mejor solubilidad fotoquímica en etanol que en agua.

## CONCLUSIONES

Las muestras de camarón resultaron altamente contaminadas por *Salmonella*. Se encontraron cepas multiresistentes a antibióticos. Es de suma importancia implementar medidas de higiene en toda la cadena de producción del camarón. Los resultados revelan que *M. oleífera* puede ser una alternativa para el control de las infecciones causadas por *Salmonella*.

## REFERENCIAS

- Bauer A W., Kirby W M., Sherris J C., Turck M. 1996. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* Vol. 45 (4): 493-6.
- Cabrera-Diaz, Elisa; Barbosa-Cardenas, Claudia M; Perez-Montaña, Julia A; Gonzalez-Aguilar, Delia; Pacheco-Gallardo, Carlos; Barba, Jeannette. 2013. Occurrence, Serotype Diversity, and Antimicrobial Resistance of Salmonella in Ground Beef at Retail Stores in Jalisco State, Mexico. *Journal of Food Protection* 76 (12) 2004-10
- Ebrahim Rahimi., Amir Shakerian., Amir Ghasemi Falavarjani. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from fish, shrimp, lobster, and crab in Iran. *Comp Clin Pathol* (2013) 22:59-62 DOI 10.1007/s00580-011-1368-3
- Instituto Sinaloense de Acuicultura: Plan maestro de camarón de alta mar del estado de Sinaloa. 2009. Conapesca: Available at: [https://cadenasproductivas.conapesca.gob.mx/pdf\\_documentos/comites/csp/Programa\\_Maestro\\_Estatal\\_CamaronAltamar\\_Sinaloa.pdf](https://cadenasproductivas.conapesca.gob.mx/pdf_documentos/comites/csp/Programa_Maestro_Estatal_CamaronAltamar_Sinaloa.pdf)
- Kumar R., Surendran P.K., Thampuran N. Distribution and genotypic characterization of Salmonella serovars isolated from tropical seafood of Cochin, India. *Journal of Applied Microbiology* 106 (2009) 515–524.
- Miranda J M ., Mondragón A C , Martínez B ., Guarddon M , Rodríguez J A . 2009. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Salmonella from different raw foods in Mexico. *J Food Prot.* 72(5):966-71. doi: 10.4315/0362-028x-72.5.966.
- OMS 2015. Resistencia a antibióticos. Consultado el 06/07/22 Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- P. Manikandan , A. Gnanasekaran , P. Julikarthika and D. Arvind Prasanth . Antibacterial Efficacy of Moringa oleifera Leaf against Medically Important Clinical Pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* ISSN: 2319-7706 Volume 5 Number 4 (2016) pp. 109-116
- Ruttarattanamongkol, K., Petrasch, A. (2015): Antimicrobial activities of Moringa oleifera seed and seed oil residue and oxidative stability of its cold pressed oil compared with extra virgin olive oil. – *Songklanakarín J Sci Technol* 37(5): 587-594.
- S. ShabarinathH., Sanath Kumar., Rekha Khushiramani., Indrani Karunasagar, Iddya Karunasagar. Detection and characterization of Salmonella associated with tropical seafood. *International Journal of Food Microbiology* Volume 114, Issue 2, 10 March 2007, Pages 227-233.
- Shah A. H, Korejo N. A.. 2012. Antimicrobial Resistance Profile of Salmonella Serovars Isolated from Chicken Meat. *J. Vet. Anim. Sci.* Vol. 2. 40-46
- Siddique Hossain, Himel Nahreen Khaleque, Farida Mazumder and Khandaker Rayhan Mahbub, 2013. Prevalence of Multidrug Resistant Salmonella in Shrimp of Dhaka City. *Microbiology Journal*, 3: 21-28.
- Zelalem Addis, Nigatu Kebede, Zufan Sisay, Haile Alemayehu, Alehegne Yirsaw, Tesfu Kassa. 2011. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa: a cross sectional study. *BMC Infectious Diseases.* Vol: 11(222): 1-7.