



AISLAMIENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS AL HOMBRE EN HORTALIZAS CULTIVADAS EN CONSTANZA Y OCOA.

Ing. Yumeris Giovanna Fernández Rodríguez, MSc.^{1,3}, Ing. Dionicia Abreu, MSc.³, Dr. Luis Maroto¹ y Dr. Edlan Franklin Franco De Los Santos^{1,2}.

1- Instituto Tecnológico de Santo Domingo (INTEC), 2- Ministerio de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (MESCYT), 3- Ministerio de Agricultura

Introducción

Cada año, casi una de cada diez personas en el mundo (se calcula que cerca de 600 millones) enferman y 420.000 mueren tras comer alimentos contaminados por bacterias, virus, parásitos. (1). La inocuidad de los alimentos contribuye a la seguridad alimentaria, la salud de la población, la prosperidad económica, la agricultura, el acceso a los mercados, el turismo y al desarrollo sostenible (1).

Durante la cadena de producción agroalimentaria, los productos vegetales pueden contaminarse por la aplicación de estiércol de origen animal y por agua contaminada con residuos entéricos, los cuales pueden portar microorganismos resistentes a antibiótico (MRA) y de microorganismos zoonóticos (2).

Existen referencias (3) que relacionan a los productos vegetales con la germinación de brotes, ensaladas de hojas y frutos de repercusión clínica a nivel global (4). Sin embargo, en nuestro país no existen suficientes reportes que permitan conocer la presencia de microorganismos patógenos en las hortalizas.

Uno de los aspectos más relevantes de la seguridad alimentaria es la vigilancia de las condiciones de higiene durante toda la cadena de producción de los alimentos con la finalidad de evitar la transmisión de microorganismos patógenos (5). El consumo mundial de vegetales se ha incrementado durante las últimas décadas, por lo que es necesaria una constante vigilancia de estos productos agrícolas que son susceptibles de hospedar gran variedad de patógenos y de esta manera comprometer la seguridad alimentaria (6).

Objetivo general:

Aislar bacterias patógenas que afectan la salud del hombre al consumir hortalizas frescas, producidas en Constanza y Ocoa.

Objetivos específicos:

Recolectar muestras de suelo y cultivo producidos en Constanza.
Identificar bacterias patógenas obtenidas en cultivo y suelo mediante técnicas microbiológicas.
Determinar la resistencia a antibióticos mediante la técnica de MALDI-TOF.
Extraer ADN y secuenciar bacterias patógenas al hombre.

Materiales y métodos.

Muestreo

Se ha colectado un total de 23 muestras de suelo de cultivos de tomate, lechuga y repollo, 110 plantas de hortalizas (tomate, lechuga, repollo), 150 litros de agua de riego durante el período agosto 2022 a julio 2023.

Se contactaron productores de hortalizas o vegetales de las zonas Constanza y Ocoa en la cual se les solicitó acceso con fines de investigación. Hemos visitado 6 parcelas de gran producción y una pequeña parcela familiar (huerto orgánico).



Figura 1. Toma de imagen satelital de la parcela de tomate en Ocoa, el Naranjal.



Figura 2. Toma de imagen satelital de la parcela de lechuga en Constanza, Tiro.

Análisis microbiológico

Muestra de suelo, agua y plantas de lechuga, tomate y repollo

Se ha filtrado 45 litros de agua de riego por parcela para 6 membranas de filtración de 0.22 μ m, para luego ser colocadas en STE (tampón de resuspensión y almacenamiento de ADN). Se procedió a diluir el agua usando 90 μ l de solución salina y 100 μ l del agua de muestra, a la vez que se realizaron 3 diluciones de cada muestra. Se realizaron inocúlos de 100 μ l por duplicado en placas agar MacConkey y Agar Nutritivo, incubado a 37°C durante 18 a 24 horas.

Para las muestras de suelo (5 g c/u) para 45 ml de solución, se agitó en un vortex, para luego hacer diluciones y ser incubado en placas agar MacConkey a 37°C durante 18 a 24 horas.

Las muestras de las plantas, se pesaron 10 g de cada muestra de la planta en bolsas estériles de plástico con 110ml de agua peptonada, se agitó en el Stomacher se tomaron 100 μ l para diluirse en solución fisiológica al 0.1% para luego inocular e incubar 37°C durante 18 a 24 horas.



Aislamiento e identificación de enterobacterias

Se conservó una colonia por cada morfología y color observado en las placas agar después de la incubación. Cada aislamiento, se identificó mediante MALDI-TOF-MS (espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización láser asistida por matriz).

Resultados Preliminares

Muestras de suelo

BACTERIAS AISLADAS

•
•
•
•
•
•
•
•
•
•



Especie	Resistencia a Ampicilina	Resistencia a Cloranfenicol	Resistencia a Tetraciclina	Resistencia a Sulfametoxazol	Resistencia a Cotrimoxazol	Resistencia a Clindamicina	Resistencia a Vancomicina	Resistencia a Linezolid	Resistencia a Colistina
Escherichia coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Klebsiella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yersinia	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Enterobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Proteus	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Serratia	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morganella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Edwardsiella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Shigella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yersinia	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Enterobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Proteus	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Serratia	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morganella	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Edwardsiella	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Discusión

Nuestros resultados preliminares evidencian la presencia de bacterias de importancia clínica para el hombre, al consumir hortalizas o vegetales sin cocción; lo cual conlleva ser una vía de genes de resistencia para la microflora humana. Estos resultados coinciden con investigaciones previas que también han señalado a los vegetales como posibles agentes de propagación de genes de resistencia en seres humanos (5). Otros estudios documentan la resistencia del género Enterobacter a antibióticos (7), en nuestro caso se observó resistencia a la Ampicilina.

Conclusión

Se han caracterizado bacterias en el suelo y cultivo de lechuga mediante técnicas de espectrometría de masa y genómica, teniendo como resultado las diferentes especies bacterianas y sus respectivos genes de resistencia, de importancia clínica que presentan resistencia a algunos de los antibióticos de uso convencional.

Referencias:

1. La inocuidad de los alimentos es responsabilidad de todos [Internet]. [citado 7 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/06-06-2019-food-safety-is-everyones-business>
2. Freitag C, Michael GB, Li J, Kadlec K, Wang Y, Hassel M, et al. Occurrence and characterisation of ESBL-encoding plasmids among Escherichia coli isolates from fresh vegetables. Vet Microbiol. 1 de junio de 2018;219:63-9.
3. Buchholz U, Bernard H, Werber D, Böhrer MM, Remschmidt C, Wilking H, et al. German Outbreak of Escherichia coli O104:H4 Associated with Sprouts. N Engl J Med. 10 de noviembre de 2011;365(19):1763-70.
4. Jones-Dias D, Managelo V, Ferreira E, Barreiro P, Vieira L, Moura IB, et al. Architecture of Class 1, 2, and 3 Integrons from Gram Negative Bacteria Recovered among Fruits and Vegetables. Front Microbiol [Internet]. 2016 [citado 5 de septiembre de 2022];7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01400>
5. Mesbah Zekar F, Granier SA, Marault M, Yaici L, Gassilloud B, Manceau C, et al. From Farms to Markets: Gram-Negative Bacteria Resistant to Third-Generation Cephalosporins in Fruits and Vegetables in a Region of North Africa. Front Microbiol [Internet]. 2017 [citado 7 de agosto de 2023];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01569>
6. Inyinbor AA, Bello OS, Oluyori AP, Inyinbor HE, Fadji AE. Wastewater conservation and reuse in quality vegetable cultivation: Overview, challenges and future prospects. Food Control. 1 de abril de 2019;98:489-500.
7. Gisnella María CC, María Guadalupe GC. Aislamiento de bacterias patógenas al humano en cultivos agrícolas de la cuenca del río Champo. [Internet] [bachelorThesis]. Universidad Nacional de Chimborazo, 2019; 2019 [citado 7 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6223>