



**ACTIVIDAD DE UN PROBIÓTICO COMERCIAL EN CEPAS DE *Salmonella* spp.
RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN DE
PORCINOS EN COLOMBIA**

Daniela Peñuela Caycedo

Pontificia Universidad Javeriana

Facultad de ciencias

Microbiología industrial

Bogotá D.C

2018



**ACTIVIDAD DE UN PROBIÓTICO COMERCIAL EN CEPAS DE *Salmonella* spp.
RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN DE
PORCINOS EN COLOMBIA**

Daniela Peñuela Caycedo

Dra. Concepción Puerta, PhD
Decana académica
Facultad de Ciencias

Dra. Marcela Franco Correa, PhD
Directora de Carrera
Carrera Microbiología Industrial

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de ciencias
Microbiología industrial
Bogotá D.C
2018



**ACTIVIDAD DE UN PROBIÓTICO COMERCIAL EN CEPAS DE *Salmonella spp.*
RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS AISLADAS EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN DE
PORCINOS EN COLOMBIA**

Daniela Peñuela Caycedo

APROBADO

Deyci R. Rodríguez Cordero, M.Sc
Directora

Rubiela Castañeda Salazar, M.V.,MSc
Jurado

Pontificia Universidad Javeriana
Facultad de ciencias
Microbiología industrial
Bogotá D.C
2018

**NOTA DE ADVERTENCIA: ARTÍCULO 23 DE LA RESOLUCIÓN N° 13 DE JULIO DE
1946**

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por qué no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por qué las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme por el buen camino y darme la fortaleza para culminar mis estudios, a mis padres porque sin ellos esto no sería posible, gracias por brindarme su apoyo incondicional en este proceso y por todas sus enseñanzas y amor.

Agradezco de manera especial y sincera a la profesora Deyci Rodriguez Cordero por aceptarme y darme la confianza para realizar este proyecto bajo su dirección. Su apoyo en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como profesional.

A mis amigos y familiares quienes me demostraron su apoyo durante toda la realización de este trabajo. En especial a mi compañera de laboratorio Magdalena Marin cuya ayuda fue indispensable para llevar a cabo este proyecto.

Y por último agradezco a los profesores y personal de la universidad por brindarme su apoyo para que este trabajo fuera posible.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	3
2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
3. MARCO TEÓRICO.....	7
3.1 <i>Salmonella</i> spp.....	7
3.2 Salmonelosis.....	7
3.3 Serotipos	8
3.4 Resistencia a antibióticos.....	9
3.5 Probióticos	12
3.6 Mecanismos de acción probióticos.....	12
4. OBJETIVOS	14
4.1 Objetivo general	14
4.2 Objetivos específicos.....	14
5. METODOLOGÍA	15
5.1 Obtención del producto comercial.....	15
5.2 Obtención de las cepas.....	15
5.3 Cepa control.....	16
5.4 Reactivación del probiótico comercial y las cepas	16
5.5 Medición de pH y densidad óptica	16
5.6 Co-cultivo de <i>Salmonella</i> spp y el probiótico	16
5.7 Cultivo alimentado	17
5.8 Análisis de datos	17
5.9 Identificación cepas probióticas	17
6. RESULTADOS.....	18
6.1 Curva de crecimiento cepa control <i>S. enterica</i> ATCC 13076	18
6.2 Co-cultivo de cepas de <i>Salmonella</i> spp con el probiótico	18
6.3 Resultados del ensayo alimentado.....	20
6.4 Resultados espectrometría de masas (Maldi-TOF MS.).....	22
7. DISCUSIÓN	23
8. CONCLUSIONES	26

9. RECOMENDACIONES.....	27
10. BIBLIOGRAFÍA.....	28
11. ANEXOS.....	32

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Antibióticos y su uso terapéutico para afecciones en humanos.....	10
Tabla 2. Cepas utilizadas en el estudio.....	14
Tabla 3. Valores de pH de curvas de crecimiento de <i>Salmonella</i> resistente a antibióticos en co-cultivo con el probiótico.....	19

LISTA DE FIGURAS

Figura1. Crecimiento de <i>Salmonella enterica</i> ATCC 13076 como control y en co- cultivo (ATCC + P).....	17
Figura 2. Crecimiento de las cepas de <i>Salmonella</i> en co-cultivo con el probiótico evaluado durante 48h.....	18
Figura3. Grafica integrada de crecimiento de <i>Salmonella Typhimurium</i> 1,4,12 :i:- - en función del tiempo, evaluando la cepa sola, en co-cultivo con el probiótico y alimentado..	20

RESUMEN

Uno de los patógenos más importantes transmitidos por alimentos es *Salmonella* spp, puede estar presentes en el intestino de aves, reptiles, tortugas y porcinos, siendo este ultimo unas de las principales fuentes de infección, por el consumo de productos de origen porcino, lo cual genera un problema de salud animal y salud publica dada su alta prevalencia de 28.2% en el país. La enfermedad generada por este microorganismo es denominada salmonelosis, en porcinos puede ser asintomático o septicémico causando diarrea y fiebre; en humanos es la principal causa de gastroenteritis. Otro de los inconvenientes con este patógeno es la aparición de cepas resistentes a antibióticos debido al uso excesivo de estos en la producción animal con fines sub-terapéuticos, contribuyendo a la aparición y proliferación de cepas resistentes de *Salmonella* spp dificultando el control de dicho microorganismo, pues presentan resistencia a antibióticos que son usados como tratamientos de primera elección contra la salmonelosis humana causando un problema de salud debido a la ineficiencia en tratamientos en personas con salmonelosis ; estudios recientes han utilizado probióticos como alternativa al uso de antibióticos en producción animal para la eliminación de microorganismos patógenos y favoreciendo el crecimiento de los porcinos, el incremento en la ganancia de peso, la promoción en la salud de los porcinos y mejorando el sistema inmune. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de un probiótico comercial en cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos aisladas de la cadena porcina en Colombia. La metodología que se realizó fue un co-cultivo de un probiótico comercial junto a una cepa control de *Salmonella* spp y diferentes cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos aisladas de la industria porcina, durante 48 horas. Adicionalmente, se estudió el crecimiento en co-cultivo en un ensayo alimentado utilizando una cepa de *Salmonella* spp multirresistentes junto con el probiótico durante 48 horas, inoculando el probiótico cada 12 horas. Para el primer ensayo se realizó mediciones cada 6 horas de crecimiento, pH y densidad óptica; para el segundo ensayo se evaluaron parámetros como densidad óptica y recuento en placa. Por último, se identificó la cepa probiótica. Se encontró que durante las horas 18 y 36 el probiótico tiene una actividad antagónica sobre el crecimiento de todas las cepas de *Salmonella* spp estudiadas. En el caso del ensayo alimentado se presentaron

mayores reducciones en el crecimiento del patógeno respecto a los que solo fueron suplementados con probióticos al inicio del ensayo.

1. INTRODUCCIÓN

La porcicultura en Colombia ha aumentado en los últimos años siendo una parte importante para la economía del país, este aumento se ve reflejado en el beneficio anual de porcinos, pues en el 2006 y el 2017 este beneficio pasó de 1.919.367 a 4.070.269 cabezas, esto es, un incremento del 114,4% (1). Debido a este incremento en la producción de porcinos, se hace necesario que la producción primaria de cerdos cumpla con estándares de calidad que garanticen productos inocuos (2).

Una de las grandes preocupaciones en la porcicultura, es la presencia de microorganismos que causan daño a los animales y a los consumidores (3). Entre estos, uno de los que más afecta la producción porcina es *Salmonella* spp, un patógeno zoonótico, el cual se encuentra en el intestino de esta especie animal, en el que se pueden encontrar serovariedades potencialmente patógenas para el ser humano y por consiguiente, los cerdos pueden constituir una fuente de infección a través del consumo de sus subproductos y un factor de riesgo para la salud pública, debido a eso ha sido identificado como uno de los patógenos transmitidos por alimentos, más importantes a nivel mundial (4).

Salmonella spp. es uno de los patógenos que más resistencias a antibióticos ha desarrollado a través del tiempo. Debido a que algunos antibióticos han sido utilizados como promotores de crecimiento en producción animal, generando la proliferación de cepas resistentes a estos (5). El problema de aumentar la resistencia microbiana a los antibióticos resultante de años de uso excesivo y la consiguiente prohibición del uso de estos en la producción animal ha llevado a un mayor interés en la búsqueda de alternativas al uso de antibióticos en la producción animal (6).

Por lo que es prioritario no solo el control del patógeno, sino buscar una alternativa para reducir y controlar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, dadas las implicaciones que tienen en la resistencia bacteriana. Una de las estrategias utilizadas actualmente es el uso de probióticos para reducir la infección por patógenos y mejorar la salud animal (7).

El uso de probióticos se ha convertido en una de las opciones más viables actualmente, pues la administración de bacterias probióticas puede ayudar a controlar las infecciones bacterianas (7), éstos se pueden definir como cultivos vivos de microorganismos administrados por vía oral, que actúan benéficamente sobre la salud del huésped al inhibir patógenos; mejorar la inmunidad intestinal; y tener un efecto protector sobre la microflora intestinal (8).

2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La salmonelosis es la enfermedad generada por *Salmonella* spp., es una de las causas más importantes de gastroenteritis en los humanos, con brotes asociados al consumo de productos como huevos, vegetales y cárnicos de origen porcino entre otros (9). Se ha reportado según Davies *et al.* (10) que en el mundo anualmente se presentan más de 1.300 millones de casos de salmonelosis y tres millones de muertes. En EEUU han estimado que el 5% de los casos asociados a *Salmonella enterica* se atribuyen al consumo de productos de origen porcino (10). La presencia de este microorganismo ha generado gran preocupación debido al aumento de especies hospederas, que son colonizadas por este género, que actúan como vectores y reservorios para que estos agentes se desarrollen y penetren en poblaciones animales y humanas (11). Adicionalmente se ha determinado la presencia de serovares resistentes a antibióticos, principalmente por el uso sub-terapéutico de éstos, que son utilizados como promotores de crecimiento en la alimentación animal, causando la resistencia a antibióticos generando gran preocupación porque la mayoría son usados como tratamientos de primera elección contra la salmonelosis humana (12). Debido a esto el control de este patógeno es de gran importancia, que a pesar de múltiples intervenciones en la cadena de producción representa un problema para la salud pública, por el fallo terapéutico que estas generan en animales y humanos, además de las pérdidas económicas en la industria porcícola. Según un estudio realizado en el 2018 por Ayala *et al.* (13) la prevalencia de *Salmonella* spp en ganglios mesentéricos de porcinos en plantas de beneficio colombianas fue de 28.2% a nivel nacional; un valor alto, debido a esto es necesario plantear una solución para el control de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos, en los últimos años se ha investigado algunas alternativas para el uso de antibióticos, estos son los probióticos los cuales son utilizados en la alimentación animal para el control de patógenos. Por lo tanto, se quiere investigar ¿Cuál es el efecto de un probiótico comercial en cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos aisladas de la cadena de producción de porcinos en Colombia?

Debido al aumento en el consumo de carne de cerdo, y al riesgo que representa la presencia de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos, se ha buscado implementar medidas de prevención y control para mitigar el daño generado por el mal usos de

antibióticos , al igual que la búsqueda de nuevas estrategias para controlarlo, como lo son los probióticos una alternativa para la producción primaria porcina, además de investigar la capacidad de los mismos ante la reducción de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos aisladas de la industria porcina colombiana siendo una medida de control.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. es una enterobacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* que se encuentra en el tracto gastrointestinal de animales y seres humanos, caracterizada por un amplio rango de hospedadores. Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporoformadores y flagelados; se pueden inactivar a pH por debajo de 5 y a temperaturas que excedan los 60 °C (14).

Es un patógeno importante para humanos y animales, debido a que es una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial y el principal transmitido por alimentos (15). Los vehículos alimenticios asociados son una amplia variedad de productos que incluyen huevos, pollo, cerdo, verduras de hoja verde, mantequilla de maní, pavo y productos lácteos, dentro de los cuales se ha identificado a los productos de origen porcino como la mayor fuente de enfermedad transmitida por alimentos en humanos (16).

3.2 Salmonelosis

La salmonelosis es la enfermedad causada por *Salmonella* spp., la cual se manifiesta como septicemia y enterocolitis. En algunos casos existen porcinos que son asintomáticos representando una fuente de infección para los seres humanos, a través, de la contaminación de productos de origen porcino. La bacteria penetra por vía oral y coloniza la mucosa intestinal, el periodo de incubación fluctúa entre 2 días y semanas, la enfermedad se puede presentar de tres formas clínicas: forma septicémica, que generalmente es causada por *S. Choleraesuis*, forma entérica aguda, causada por *S. Typhimurium* y forma entérica crónica (17).

La forma septicémica es la que causa la mayor mortalidad y ocasiona pocos signos clínicos, algunos presentan fiebre y debilitamiento, la muerte ocurre a las 48 horas postinfección; es común en lechones destetados. La forma entérica aguda afecta tanto a lechones destetados como a animales adultos, en esta la diarrea es la manifestación clínica

más importante, con heces muy acuosas y fétidas de color amarillo; la mayoría de los cerdos se recupera totalmente, aunque estos continúan como portadores, eliminando intermitentemente la bacteria durante cinco o más meses. Por último, la forma entérica crónica en la cual los cerdos afectados tienen pérdida de peso, fiebre intermitente y diarrea fétida persistente, que frecuentemente ocasiona debilitamiento total e incluso la muerte o si sobreviven presentan enterocolitis necrosante (17)

En humanos la salmonelosis puede generar dos síndromes importantes: Fiebre tifoidea causada por *S. Typhi* provocando diarrea y erupción cutánea; y la segunda fiebre paratifoidea causada por *S. Paratyphi* provocando ictericia, trombosis o abscesos hepáticos y también con un cuadro sistémico (18). La gravedad de la infección puede variar según la resistencia de cada individuo y el sistema inmunitario. Por otro lado, también puede causar gastroenteritis, una infección restringida a la mucosa intestinal, causada por muchos serotipos, siendo los más comunes *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* (18).

3.3 Serotipos

Existen más de 2600 serotipos, los que se van a estudiar en este trabajo provienen de un monitoreo de bacterias patógenas en plantas de sacrificio, desposte y expendio de la cadena porcícola, a las cuales se les realizó previamente la evaluación de resistencia a antibióticos, de uso terapéutico en humanos (19)

- *S. Typhimurium*: este serovar se encuentra en porcinos, específicamente en las tonsilas identificándolo como el órgano más altamente colonizado, seguidos por el tracto gastrointestinal y el tejido linfático asociado al intestino (20). El signo inicial de enfermedad clínica es la diarrea amarilla acuosa, con sangre que se observa esporádicamente en las heces. Los animales afectados presentan fiebre, pérdida de peso y deshidratación. La sintomatología de la salmonelosis por *S. Typhimurium* es similar en humanos y cerdos (21). Este serovar presenta resistencia a diferentes antibióticos, siendo el de mayor frecuencia Tetraciclina (84.7%) y luego ampicilina (81.25%) (20).

-S. Virchow: Es una serovariedad que se ha reportado en mayor cantidad en aves, ha sido aislado en brotes transmitidos por alimentos y poco frecuente en cerdos, se ha encontrado con mayor frecuencia en cerdos de destete en un estudio realizado en Corea. En humanos puede causar enfermedades gastrointestinales, sin embargo, ha sido asociado a casos de septicemia. Presenta resistencia a la gentamicina y a las cefalosporinas. (22).

-S. London: es un patógeno emergente aislado en 1980 en un brote en Hungría relacionado a alimentos y carne curada. Actualmente se han aislado en infantes alrededor de los 3 meses presentando fiebre y diarrea con sangre, presentando resistencia a ampicilina y ácido nalidíxico (23).

-S. Agama: Es una serovariedad que fue aislada por primera vez en Nigeria, puede causar infecciones autolimitadas y el desprendimiento asintomático, al igual que otras infecciones no tifóides de *Salmonella*. El curso de la enfermedad puede verse afectado por la dosis infecciosa ingerida, los factores del huésped y la virulencia. Es resistente a la claritromicina (24).

3.4 Resistencia a antibióticos

En los animales de granja, los antibióticos se utilizan en terapia, profilaxis y uso subterapéutico para aumentar el crecimiento y la eficiencia de la alimentación (25). Pero debido a su uso rutinario, se ha generado una resistencia generalizada, aumentando la resistencia bacteriana a los antibióticos, que puede amenazar la salud de los animales y los humanos (25). En la tabla 1 se puede observar los diferentes antibióticos a los cuales presentaron resistencia las cepas de *Salmonella* spp. utilizadas en este estudio y su uso terapéutico para afecciones en humanos.

Esta resistencia por parte de las bacterias puede ser una propiedad natural de un organismo o adquirida a través del tiempo por el desarrollo de diferentes mecanismos por medio transferencia horizontal, mutaciones, adquisición de plásmidos o transposones que codifican genes específicos de resistencia a fármacos (26).

Una de las grandes preocupaciones es la aparición de resistencia por parte de *Salmonella* no tifoide, que desde 1996 se ha incrementado a dos fármacos clínicamente importantes, la ceftriaxona (un cefem) y la ciprofloxacina (una quinolona). También en el año 2011 el centro para el control de enfermedades CDC indico que alrededor del 5% de las cepas de *Salmonella* spp son resistentes a cinco o más tipos de fármacos (27).

Dado la importancia y riesgo que genera la resistencia antibióticos, el uso subterapéutico para promover el crecimiento animal, ha sido prohibido en muchos países, como la Unión Europea y Japón, pues las cepas de *Salmonella* spp resistentes a múltiples agentes antimicrobianos pueden comprometer el tratamiento efectivo de las infecciones en humanos (28). Por lo cual, se busca prohibir la inclusión de antibióticos en la dieta de los cerdos.

Tabla1. Antibióticos y su uso terapéutico para afecciones en humanos

Antibiótico	Uso en afecciones humanas	Uso en animales	Referencias
SAM (ampicilina/sulbactam):	Utilizado contra bacterias Gram negativas, para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes a los betalactámicos	Utilizado en animales (Bovinos, equinos y porcinos)	(29)
CAZ (ceftazidima)	Utilizado para infecciones del tracto respiratorio inferior meningitis y otras infecciones del cerebro y la columna vertebral; y abdominales	Utilizado en perros y gatos	(30)
TCY (tetraciclina)	Activo frente a Gram positivos y otros microorganismos infecciones intestinales, en la piel, urinarias y respiratorias	Utilizado en humanos y animales	(31)
CXM (cefuroxima)	Infecciones como bronquitis, gonorrea, enfermedad de Lyme; e infecciones de la piel, oídos, amígdalas y tracto urinario	Uso en humanos y animales	(32)
ATM (azitromicina)	Tratamiento de infecciones genitales	Solo uso en humanos	(33)
FOX (cefoxitina)	Utilizado en Bronquitis, Amigdalitis, Infecciones de oído, Neumonía y Septicemia	Solo uso en humanos	(34)
IPM (imepinem)	Es especialmente potente contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> y especies de <i>Enterococcus</i> .	Uso restringido	(35)

..

Fuente: Autor

3.5 Probióticos

Los probióticos según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Grupo de Trabajo de la Organización Mundial de la Salud (OMS), definieron los probióticos como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped (36).

Las características que debe cumplir un probiótico son las siguientes: No ser sensible a las enzimas proteolíticas gastrointestinales, ser estable frente a ácidos y bilis, poseer capacidad para adherirse a las superficies epiteliales, producir compuestos antimicrobianos, permanecer vivo (o activo) y estable durante su empleo (37).

Así mismo, se espera que el probiótico sea capaz de ejercer alguna acción científicamente comprobada que promueva la salud, además que sea genéticamente estable y tenga propiedades organolépticas y tecnológicas deseables desde el punto de vista de los procesos industriales, cuando son destinados para el consumo humano (38).

Como se mencionó anteriormente los probióticos son una alternativa para reducir el uso de antibióticos, pues se ha demostrado que empleo de estos en las dietas, mejoran la calidad digestiva de los alimentos constituyendo una acción de vital importancia para el futuro desarrollo de los animales y, lo que es más importante aún, lograr un estado inmunológico superior, que permita suprimir el uso de medicamentos (39).

3.6 Mecanismos de acción probióticos

Los probióticos pueden ejercer sus efectos benéficos mediante diferentes mecanismos como:

- ✓ Interacción directa con el huésped
- ✓ Producción de sustancias secretadas por microorganismos como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y biosurfactantes, que actúan inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas.
- ✓ Mecanismos enzimáticos, donde secretan enzimas capaces de hidrolizar toxinas bacterianas y modificar receptores de toxinas.

- ✓ Los probióticos ejercen un efecto competitivo con otras bacterias, ocupando sus lugares de adhesión inhibiendo el crecimiento de especies de enteropatógenos
- ✓ Competición de nutrientes.
- ✓ Poseen la capacidad de adherirse a enterocitos y colonocitos y afectan a la composición del ecosistema intestinal, incrementando el efecto barrera no dependiente del sistema inmunológico. En ocasiones compiten con diversos patógenos en su adhesión al epitelio por medio de ciertos determinantes adhesivos
- ✓ Disminución del pH luminal a través de la actividad fermentativa probiótica (40).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de un probiótico comercial en cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos aisladas de la cadena porcina en Colombia.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la capacidad del probiótico comercial para reducir el crecimiento de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos.
- Comparar la actividad del probiótico comercial frente a 5 cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Obtención del producto comercial

El probiótico comercial utilizado en este proyecto fue suministrado por el centro de investigación Ceniporcino.

5.2 Obtención de las cepas

Las cepas de *Salmonella* spp. que se utilizaron en el proyecto fueron suministradas por el laboratorio de Microbiología de alimentos de la Pontificia Universidad Javeriana (Bogotá, Colombia), las cuales fueron aisladas en diferentes puntos de la cadena de producción de porcinos, en trabajos realizados anteriormente. Las cepas utilizadas fueron *S. Typhimurium*, *S. Agama*, *S. London*, *S. Virchow*, *S. Westhampton* y la variante de *Salmonella Typhimurium* 1,4,12: i: - -. La cepa control no resistente a antibióticos para este estudio fue *S. enterica* ATCC 13076.

Tabla 2. Cepas utilizadas en el estudio

Serotipo	Origen de muestra	Perfil de susceptibilidad
<i>S. Typhimurium</i> (1)	Canal	SAM, CAZ, TCY, CXM
<i>S. Agama</i> (2)	Ganglio mesentérico del cerdo	SAM, TCC, TCY
<i>S. London</i> (3)	Ganglio mesentérico del cerdo	ATM, TCY
<i>S. Westhampton</i> (4)	Intestino delgado	SAM, FOX, TCY, CXM, IPM
Variante de <i>Salmonella Typhimurium</i> 1,4,12: i: - - (5)	Ganglio mesentérico del cerdo	SAM, CAZ, TCY, CXM, ATM, FOX, IPM y TCC

SAM: Ampicilina sulbactam, CAZ:ceftazidima, TCY:tetraciclina, CXM:cefuroxima, ATM:azitromicina, FOX:cefoxitina, IPM:inempinem.

Fuente: Modificada de resultados obtenidos por investigación previa en el Lab. Microbiología de Alimentos, Pontificia Universidad Javeriana de Colombia (19).

5.3 Cepa control

Se evaluó el crecimiento de la cepa control *S. enterica* ATCC 13076 mediante una curva de crecimiento en 100 mL de caldo Brain Heart Infusión (BHI), en agitación continua a 120 rpm, incubando a 35 ± 2 °C por 48 horas. Inicialmente se tomó una muestra a las 2 horas, y posteriormente cada 6 horas. La concentración microbiana se determinó mediante la medición de la densidad óptica y recuento en placa en Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD). También se realizó un co-cultivo de esta cepa con el probiótico con las condiciones indicadas en el numeral 5.6.

5.4 Reactivación del probiótico comercial y las cepas

La reactivación del producto suministrado se realizó pesando 0.5 g del probiótico que se transfirieron a un tubo tapa rosca que contenía 10 ml de agua estéril. Este tubo con el producto se incubó a 35 ± 2 °C por 12 horas para su posterior uso.

5.4.1 La reactivación de cepas utilizadas para el trabajo se realizó tomando un 1 vial del banco de trabajo de la cepa a estudiar, el cual se agitó en un vortex; seguido de esto se tomó una alícuota del vial de 1000 uL que se transfirió a un frasco que contenía 100 mL de caldo BHI. Se llevó a incubar a 35 °C en agitación continua a 120rpm.

5.5 Medición de pH y densidad óptica

Para cada cepa de *Salmonella* spp. el ensayo se realizó por triplicado y se midió el pH y la densidad óptica D.O. a 610 nm, cada 6 horas durante 48 horas.

5.6 Co-cultivo de *Salmonella* spp y el probiótico

Mediante una curva de crecimiento se evaluó el crecimiento de *Salmonella* spp. en co-cultivo con el probiótico, en el cual se adiciono 1000 uL de la cepa de *Salmonella* spp. más 1000 uL del probiótico en 100 mL de caldo BHI. Este fue incubado a 35°C en agitación continua a 120 rpm. Tomando muestras a las 2 horas y después cada 6 horas durante 48 horas. Se probaron 5 cepas de *Salmonella* spp, resistentes a antibiótico, un control *Salmonella* (*S. Entérica* ATCC13076) y una mezcla que contenía 100 uL de las cepas 5 cepas. Mediante recuento en placa en XLD y plate count agar (SPC). El crecimiento

microbiano en medio XLD fue expresado como log UFC /mL de acuerdo metodología descrita por Kanjan *et al* 2017 (41).

5.7 Cultivo alimentado

En este ensayo se seleccionó una cepa de las 5 resistentes a antibióticos, esta fue la variante de *Salmonella* Typhimurium 1, 4,12: i: --, esta fue escogida porque fue aislada de ganglio mesentérico y fue la que presento mayor resistencia a los antibióticos. Se incubó tomando 1000 uL, en 100 mL de caldo BHI, durante 48 horas, a 35 °C en agitación continua a 120 rpm según la metodología descrita por Potočnjak *et al* 2017 (42). Se tomaron muestras a las 2 horas y después cada 12 horas. Se simuló un sistema alimentado en este caso el de los porcinos los cuales se alimenta dos veces al día, por lo cual cada 12 horas se inoculó 1000 uL del probiótico previamente reconstituido. Los parámetros evaluados fueron densidad óptica, y recuento en placa expresado como UFC/mL en agar XLD.

5.8 Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS Statistics 24, en el cual se llevó a cabo un análisis de varianza Tukey de un factor. Las diferencias con $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativas.

5.9 Identificación cepas probióticas

Mediante la técnica de espectrometría de masas Maldi-TOF MS (Bruker, Daltonics Inc, Billerica, MA) se identificó una de las cepas probiótica como *Bacillus subtilis*.

6. RESULTADOS

6.1 Curva de crecimiento cepa control *S. enterica* ATCC 13076

En la Figura 1 se observa el crecimiento de la cepa control y en co-cultivo con el probiótico comercial durante 48h. En la cual es posible evidenciar en la hora 2 y en la hora 18 un mayor crecimiento de *Salmonella* en co-cultivo con respecto al control, además de la hora 18 a la 36 se puede resaltar una disminución en el crecimiento de *Salmonella* con el probiótico, la cual se debe al efecto que el probiótico ejerce sobre este.

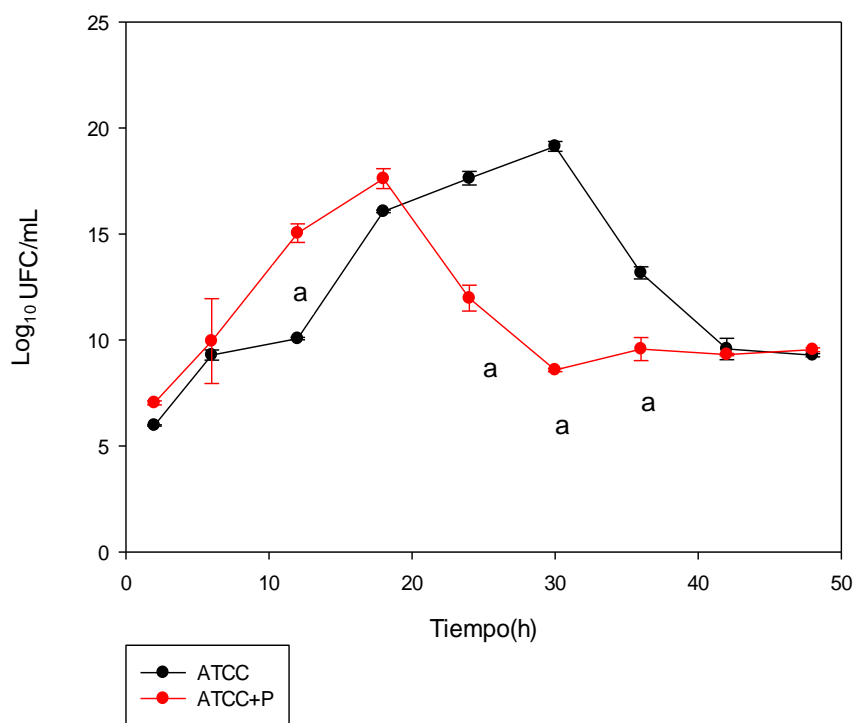


Figura1. Crecimiento de *Salmonella enterica* ATCC 13076 como control y en co- cultivo (ATCC + P). La letra a indican diferencias significativas ($p < 0,05$) mediante análisis de varianza por la prueba de Tukey de un factor.

6.2 Co-cultivo de cepas de *Salmonella* spp con el probiótico

En la figura 2 resultados del ensayo *in vitro* para cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos incluyendo la mezcla de estas, en co-cultivo con el probiótico y su respectivo control. En la cual se evidencia que a partir de la hora 18 a la hora 36 en todas las cepas resistentes hay una disminución en el crecimiento, a partir de la

hora 18 se evidencia en la gráfica un decrecimiento gradual hasta las horas 40 a la hora 48 para las cepas 1,2,3 y el control, en cambio para las cepas 4 y mix los valores se mantienen constantes. Además, se observa que las fases exponenciales son muy cortas en comparación con el control, demostrando el efecto del probiótico en la reducción del crecimiento. Obteniendo la mayor reducción de crecimiento a la hora 30 en **1** (10,05 UL), **2** (11,29 UL), **3**(10,86 UL),**4** (10,45 UL), **5** (9,02 UL) y **Mix** (10,56 UL), con respecto al crecimiento de la cepa control.

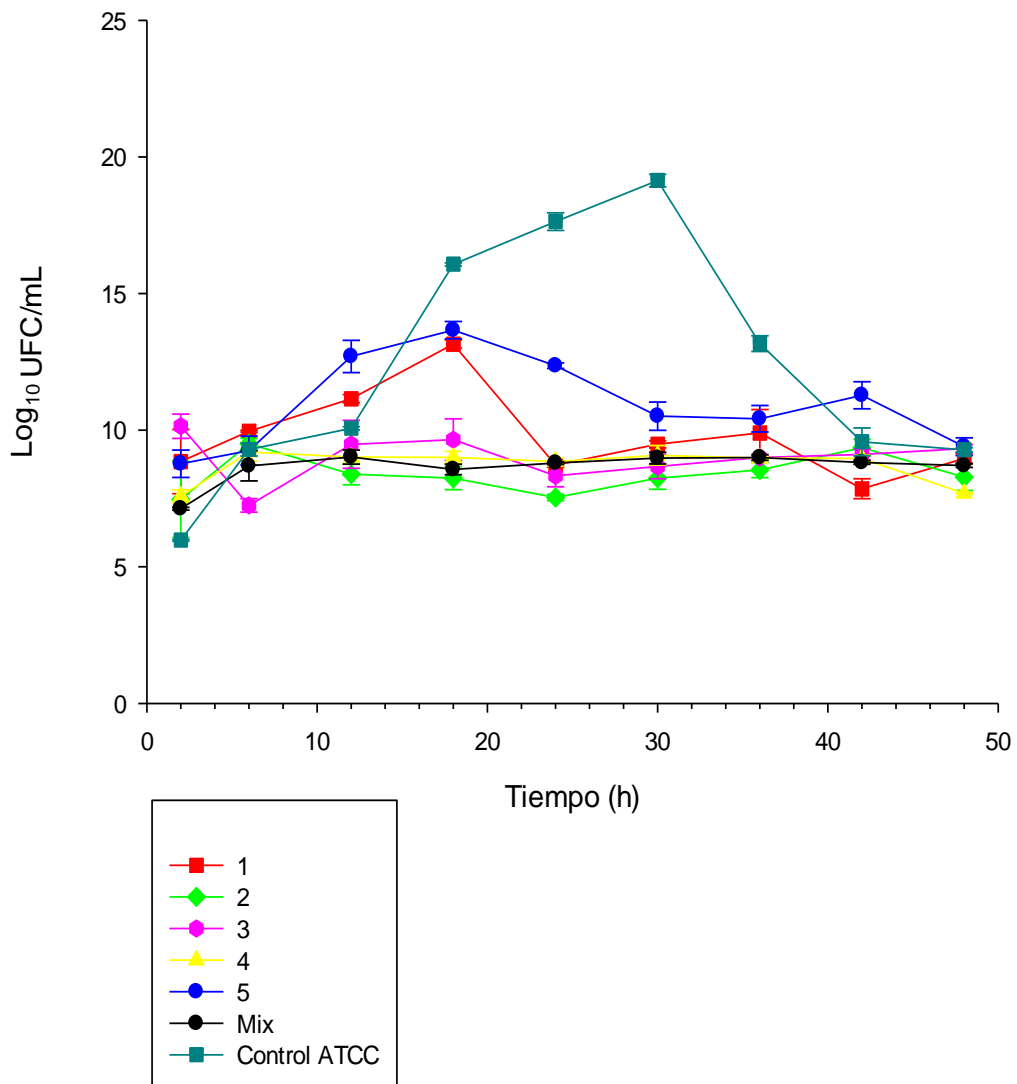


Figura 2. Crecimiento de las cepas de *Salmonella* spp. en co-cultivo con el probiótico evaluado durante 48h

Durante las 48h se evaluó el pH de las diferentes cepas de estudio en la curva de crecimiento, es posible observar que el pH es constante entre los valores de 6-7, sin embargo, en la hora 6 dichos valores presentan un comportamiento diferente en todas las cepas evaluadas excepto en la cepa 330 y mix.

Tabla 3. Valores de pH de curvas de crecimiento de *Salmonella* spp. resistente a antibióticos en co-cultivo con el probiótico.

Tiempo (h)	pH						
	Control	908	1948	424	330	299	Mix
2	7,3	6,8	7,1	7,1	7,3	7,0	7,3
6	7,0	5,8	5,9	5,9	6,1	5,9	6,1
12	6,1	6,2	6,4	6,5	6,6	6,2	6,6
18	6,4	6,1	6,3	6,4	6,5	6,2	6,4
24	6,4	6,0	6,3	6,4	6,3	6,1	6,2
30	6,4	5,9	6,3	6,3	6,1	6,4	6,2
36	6,7	5,9	6,5	6,4	6,8	6,2	6,6
42	6,8	6,7	6,6	6,6	6,3	6,7	6,3
48	6,8	6,3	6,7	6,7	6,3	6,6	6,5

6.3 Resultados del ensayo alimentado

En la figura 3 se muestran los resultados obtenidos a partir del ensayo alimentado, comparándolo con la cepa de *Salmonella* sola, en co- cultivo con el probiótico y con el sistema alimentado, el cual se le adicionó el probiótico cada 12 horas durante 48 horas. Se puede evidenciar la diferencia entre los ensayos, pues la mayor disminución en el crecimiento es con el ensayo alimentado, demostrando que la inclusión del probiótico en la dieta de los porcinos dos veces al día puede llegar a tener un efecto controlador sobre el crecimiento de *Salmonella* spp.

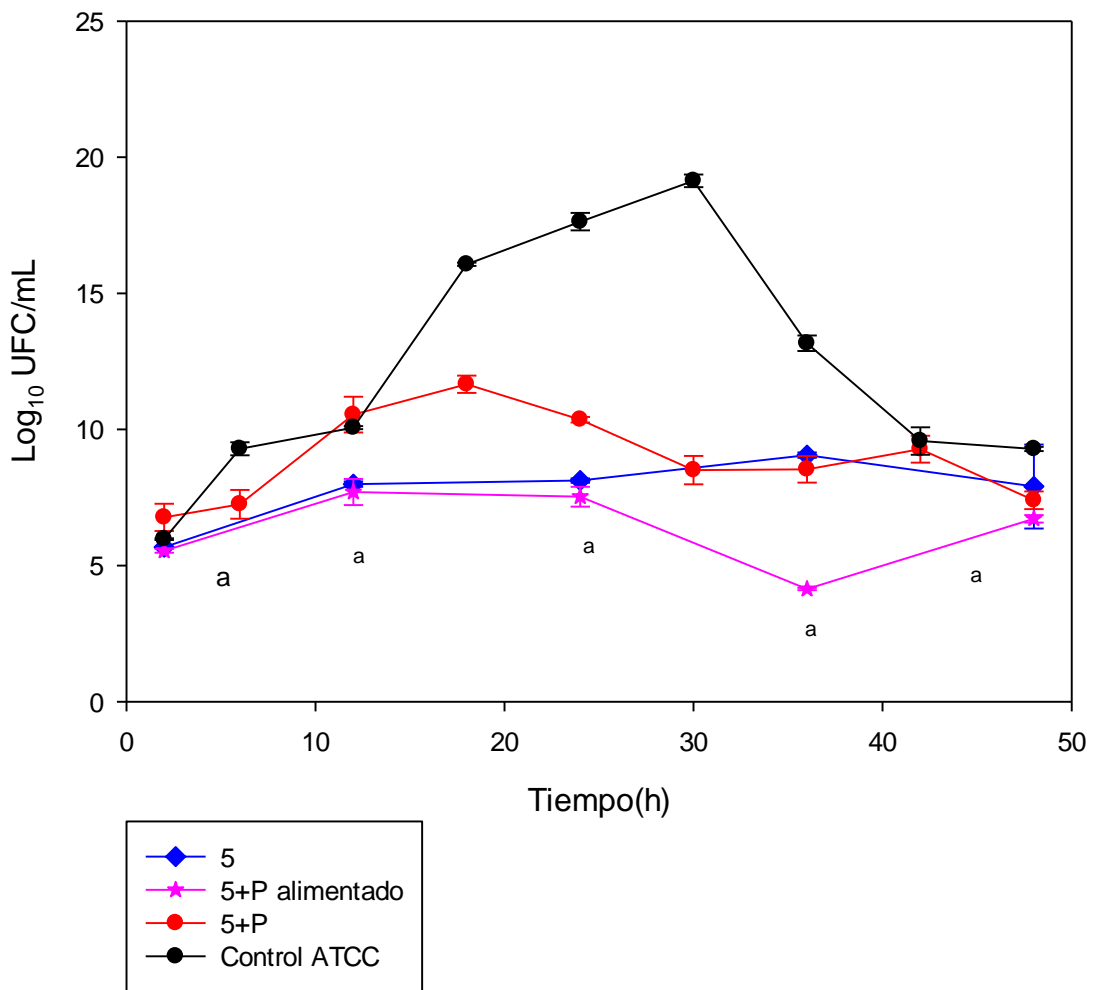


Figura3. Grafica integrada de crecimiento de *Salmonella Typhimurium 1,4,12* :- - en función del tiempo, evaluando la cepa sola, en co-cultivo con el probiótico y alimentado. La letra a indican diferencias significativas ($p < 0,05$) mediante análisis de varianza por la prueba de Tukey de un factor

6.4 Resultados espectrometría de masas (Maldi-TOF MS.)

La cepa probiótica identificada fue *Bacillus subtilis* como se puede observar en la imagen, el color verde indica que hay una alta probabilidad de identificación de especies, el color amarillo indica una probable identificación de genes y el color rojo indica que es una identificación no confiable. Sin embargo, no se logró identificar los otros dos microorganismos aislados del producto comercial, esto puede deberse a que la base de datos utilizada en el Maldi-TOF es de microorganismos de origen clínico y por dicha razón no se logró identificarlos.

Rank(Quality)	Matched Pattern	ScoreValue	NCBIIdentifier
1(++)	Bacillus subtilis ssp subtilis DSM 10T DSM	2.128	135461
2(++)	Bacillus subtilis DSM 5552 DSM	2.082	1423
3(++)	Bacillus subtilis ssp subtilis DSM 5660 DSM	2.004	135461
4(+)	Bacillus subtilis DSM 5611 DSM	1.961	1423
5(+)	Bacillus mojavensis DSM 9205T DSM	1.777	72360
6(+)	Bacillus subtilis ssp spizizenii DSM 618 DSM	1.758	96241
7(+)	Bacillus atropheus DSM 5551 DSM	1.7	1452
8(-)	Bacillus subtilis ssp spizizenii DSM 15029T DSM	1.664	96241
9(-)	Bacillus vallismortis DSM 11031T DSM	1.621	72361
10(-)	Bacillus atropheus DSM 2277 DSM	1.558	1452

Meaning of Score Values

Range	Description	Symbols	Color
2.300 ... 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 ... 2.299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1.700 ... 1.999	probable genus identification	(+)	yellow
0.000 ... 1.699	not reliable identification	(-)	red

7. DISCUSIÓN

Las cepas utilizadas en este estudio fueron aisladas de canal y de ganglio mesentérico, tres de las cinco cepas son de ganglio lo que indica que la contaminación con *Salmonella* spp viene desde la Granja y que los porcinos han sido colonizados desde tiempo atrás; pues la contaminación en ganglios no es un indicador de contaminación reciente, sino de largos períodos de exposición; lo que puede favorecer la diseminación del microorganismo (13). Otro aspecto importante, es la resistencia a los antibióticos, pues la mayoría son de uso animal y también de uso humano, generando gran preocupación porque limita las opciones de tratamiento frente a diferentes microorganismos Gram positivos y Gram negativos, comprometiendo el tratamiento efectivo de las infecciones en animales y en humanos (43).

Los resultados de este estudio mostraron que la adición del probiótico al cultivo con *S. enterica* ATCC 13076 utilizada como control, tiene un efecto reductor sobre el crecimiento de esta, como se observó en la Figura 1, en donde el crecimiento empieza a disminuir desde la hora 30, sin embargo, para la hora 42 y 48, su crecimiento alcanza valores de 9 UL tanto para el control solo y con el probiótico. Este mismo comportamiento es observado para las cepas de *Salmonella* spp. resistentes en co-cultivo con el probiótico evaluado. Esto podría indicar que hay una cantidad limitada de sustrato disponible y la actividad del probiótico podría ser resultado de una competencia por nutrientes. Al agotarse los nutrientes de ambos microorganismos disminuye la actividad antagónica durante estas últimas horas, por lo cual esta limitación de nutrientes en el sistema puede interferir con la actividad probiótica esperada.

Este efecto mediado por el probiótico en la reducción del crecimiento de *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos se puede observar en la Figura 2 en la cual las horas con mayor reducción correspondieron a la hora 24 y 30. En la hora 24 del ensayo *S. Typhimurium* [1] presentó una reducción de 9,1 UL, *S. Agama* [2] de 11,09 UL, *S. London* [3] de 10,30 UL, *S. Westhampton* [4] de 9,78 UL, Variante de *Salmonella* Typhimurium 1,4,12 :i:- - [5] de 6,27 y por último el mix de *Salmonella* de 9,83 UL todas estas comparadas con el control. Estos resultados contrastan con otro estudio realizado por Istvan *et al.* (44) en el cual

evalúan un probiótico *E. faecium* sobre *Salmonella* serovar Typhimurium en cerdos, en esta la concentración inicial fue de 9.4 UL y lograron obtener una reducción de 3 UL. Demostrando así, que los probióticos tienen un rol importante en la prevención y control de patógenos gastrointestinales, a través de diversos mecanismos. Sin embargo, la concentración inicial de *Salmonella* spp. en ambos estudios es alta, pues se ha encontrado que este microorganismo está presente en los porcinos en concentraciones entre $1,06 \times 10^3$ y $1,73 \times 10^6$ UFC (45), por lo que si se incluye el probiótico en la dieta de los porcinos puede ser una alternativa en producción animal debido a su potencial en la inhibición de este patógeno.

El microorganismo presente en el probiótico utilizado fue identificado como *Bacillus Subtilis*, el cual presenta un mecanismo de acción basado en antagonismo, este mecanismo consiste en la producción de un metabolito de origen proteico con propiedades bactericidas, como se demuestra en un estudio realizado por Klose *et al* 2010 (46) Además en otros estudios (47) se demostró la capacidad que tiene este microorganismo para aumentar el peso en los cerdos, siendo más efectivo que los antibióticos, resultando eficiente para la producción animal, como alternativa al uso de antibióticos. También disminuye la diarrea en cerdos que genera *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* por medio de exclusión competitiva a través de la producción de sustancias antimicrobianas. Así mismo Willey *et al* 2009 (48) demostró que *Bacillus subtilis* es capaz de producir péptidos o antibióticos. Esto indica que la actividad antagónica del probiótico utilizado puede estar mediada gracias a la producción de estos compuestos.

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el pH de las cepas evaluadas como se muestra en la tabla 3, solo en la hora 6 se observa un descenso en el pH, en esta hora, observando la Figura 2 la única que disminuye su crecimiento es la cepa 3, respecto al valor inicial y la cepa 2 a las 24 h indicando que no existe una correlación. Confirmando así que el mecanismo de acción del probiótico no es por medio de la producción de ácidos, sino como se mencionó anteriormente es posible que sea por antagonismo o exclusión competitiva.

En los resultados obtenidos del ensayo alimentado se simuló la alimentación que se da a los porcinos a los 10-12 días de nacido la cual se empieza a suplementar (concentrado pre-iniciador 50-100g/ día), en ésta etapa inicia el consumo de probióticos (aproximadamente al día 20 de nacido)(49), con el fin de observar si había una mayor inhibición de las cepas de *Salmonella* spp. como se puede ver en la figura 3, el introducir el probiótico más de una vez en el cultivo, genera una mayor reducción en el crecimiento, comparándolo con la cepa sola y en co-cultivo, el descenso en el crecimiento es mayor alcanzando una reducción de 9 UL a las 36 horas con respecto al control, en contraste la misma cepa que solo alcanzo a reducir 2,9 UL en la hora 36, indicando que el sistema alimentado permite una mayor reducción de *Salmonella* spp., sin embargo esta reducción también puede estar mediada por el agotamiento de nutrientes en el medio. En ambos ensayos co-cultivo y alimentado se evidencia en la hora 24 una disminución importante en el crecimiento, no obstante, en el cultivo alimentado sigue descendido el crecimiento hasta la hora 36; esto demuestra que la adición del probiótico cada 12 horas tiene un mayor efecto inhibitor sobre el crecimiento.

Utilizar el probiótico en altas dosis como en el ensayo alimentado ha demostrado mejores resultados para el control de patógenos, como lo indica Haghghi *et al* 2008 (50) en su estudio en el cual aplican dosis de 1×10^5 y 1×10^6 UFC/mL de un producto probiótico comercial, obteniendo mayores efectos en la reducción de *Salmonella* spp. con la mayor dosis utilizada del probiótico.

8. CONCLUSIONES

El probiótico evaluado tiene un efecto inhibitor sobre el crecimiento de las cepas de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos indicando que puede ser una alternativa para el no uso de antibióticos en el control de dicho patógeno en producción de porcinos.

El ensayo alimentado periódicamente con el probiótico demostró tener un mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Salmonella* spp resistentes a antibióticos comparado con el co-cultivo.

En la comparación en el crecimiento de las cepas evaluadas se observó que después de la hora 36, la concentración de *Salmonella* spp. volvió a aumentar, por lo que se requiere adicionar probiótico más de una vez para controlar este patógeno.

9. RECOMENDACIONES

Se sugiere evaluar el probiótico in vivo en los diferentes puntos de la cadena y determinar su efecto sobre la alimentación constante en los animales, para poder observar el efecto del probiótico como un promotor de crecimiento.

Se recomienda el uso combinado de varios probióticos, para potencializar el efecto controlador sobre patógenos.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Boletín económico Pork Colombia [Internet]. Colombia: 2017. Análisis de coyuntura del sector porcicultor primer semestre de 2017; [citado 13 dic 2017]. Disponible en:
2. Inocuidad de los alimentos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2018 [citado el 17 de abril de 2018]. Disponible en: http://www.who.int/topics/food_safety/es/
3. Comunidad profesional porcina [Internet]. Colombia: 2017. El control de Salmonella en porcino en la actualidad; [citado 13 dic 2017]. Disponible en: https://www.3tres3.com/salmonela/el-control-de-salmonella-en-porcino-en-la-actualidad_37633/
4. Thapaliya D, Hanson B, Kates A, Klostermann C, Nair R, Wardyn S et al. Zoonotic Diseases of Swine: Food-borne and Occupational Aspects of Infection. Springer [Internet]. 2014[citado 13 dic 2017];23-68. Disponible en: DOI 10.1007/978-94-017-9457-2_2
5. Teuber M. Veterinary use and antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology [Internet]. 2001[citado 13 dic 2017];4(5):493-499. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00241-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00241-1)
6. Scott A. McEwen, Paula J. Fedorka-Cray; Antimicrobial Use and Resistance in Animals. Clinical Infectious Diseases [internet].2001[Citado 16 abr 2018];34: 93–106. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/340246>
7. Giraldo-Carmona J, Narváez-Solarte W, Díaz-López E. Probióticos en cerdos: resultados contradictorios. Revista Biosalud [Internet]. 2015[Citado 16 abr 2018]; 14: 81-90. Disponible en: DOI: 10.17151/biosa.2015.14.1.9
8. Probiotic Agents and Infectious Diseases: A Modern Perspective on a Traditional Therapy. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2001[Citado 16 Abril 2018];32:1567-1576.Disponible en: DOI: 10.1086/320518
9. Wilhelm B, Young I, Cahill S, Nakagawa R, Desmarchelier P, Rajić A. Rapid systematic review and meta-analysis of the evidence for effectiveness of primary production interventions to control Salmonella in beef and pork. Preventive Veterinary Medicine [Internet]. 2016 [Citado 16 Abril 2018];147:213-225.Disponible en: DOI: 10.1016/j.prevetmed.2016.12.004.
10. Davies PR. Intensive Swine Production and Pork Safety. 2011; 8(2):189-201.
11. Boyen F1, Haesebrouck F, Maes D, Van Immerseel F, Ducatelle R, Pasmans F.Non-typhoidal Salmonella infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. Veterinary Microbiology [Internet]. 2008 [Citado 16 Abril 2018];130:1-19. Disponible en: DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.12.017
12. Wondwossen A. Gebreyes, Siddhartha Thakur, Peter R. Davies, Julie A. Funk, Craig Altier; Trends in antimicrobial resistance, phage types and integrons among Salmonella serotypes from pigs. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [Internet]. 2000 [Citado 2 mar de 2018] ;53:997-1003.Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jac/dkh247>
13. Ayala-Romero C, Ballen-Parada C, Rico-Gaitán M, Chamorro-Tobar I, Zambrano-Moreno D, Poutou-Piñales R et al. Prevalencia de Salmonella spp., Ganglios

- mesentéricos de porcinos en plantas de beneficio Colombianas. Revista MVZ Córdoba[Internet]. 2018 [Citado 29 de mayo 2018]; 23: 6447.
14. Pui, C. Wong, W.Chai, L.Tunung, R.,Jeyaletchumi, P. Salmonella: A foodborne pathogen. International Food Research Journal [Internet]. 2011[Citado 16 abril de 2018];18: 465- 473. Disponible en: [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(02\)%202011/\(1\)%20IFRJ-2010-306.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(02)%202011/(1)%20IFRJ-2010-306.pdf)
 15. Salmonella (no tifoidea) [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2017 [citado 13 dic 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>
 16. Andino A, Hanning I. Salmonella enterica: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. The Scientific World Journal [Internet].2015 ;2015:1-16.Disponible en: doi: 10.1155/2015/520179.
 17. Flores R. La salmonelosis porcina y su importancia en la cadena de producción. IVIS[Internet]. 2014 [Citado 16 Abril 2018] ; 111:16-21. Disponible en: <http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Archivos/La%20salmonelosis%20porcina%20y%20su%20importancia%20en%20la%20cadena%20de%20produccion.pdf>
 18. Salmonella (no tifoidea) [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2018 [citado el 24 de abril de 2018]. Disponible en: [http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
 19. Informe técnico final. Convenio especial de cooperación técnica y científica entre el ministerio de agricultura y desarrollo rural y asoporcicultores. Monitoreo de bacterias patógenas en plantas de sacrificio, desposte y expendio de la cadena porcina.
 20. Wood RL, Pospischil A, Rose R. Distribution of persistent Salmonella typhimurium infection in internal organs of swine. National Animal Disease Center, US Department of Agriculture, Ames [Internet]. 1989 [Citado 16 Abril 2018];50:1015-21.
 21. Collado-Romero M, Arce C, Ramírez-Boo M, Carvajal A, Garrido J. Quantitative analysis of the immune response upon Salmonella typhimurium infection along the porcine intestinal gut. Veterinary Research [Internert]. 2009 [Citado 16 Abril 2018] ;41:23. Disponible en: Doi:10.1051/vetres/2009072
 22. Lombardi D, Malaspina S, Strippoli A, Lucarelli C, Luzzi I, Ripabelli G. Salmonella entérica serovar Virchow meningitis in a young man in Italy: A case report. Journal Of Medical Case Reports [Internet]. 2014 [citado Septiembre 7, 2017]; 8:1-6.
 23. Shipp G, Dickson J. The establishment of enterobacteriaceae and Salmonella London in a new dairy farm environment. Foodborne Pathogens And Disease [Internet]. 2011 [citado 17 de septiembre 2017]; 8: 411-420. Disponible en: doi: 10.1089 / fpd.2010.0692.
 24. B elard, S., Kist, M., y Ramharter, M. Viajes relacionados con Salmonella Agama,Gab on. Enfermedades Infecciosas Emergentes , 13 (5), 790-791. Disponible en: <http://doi.org/10.3201/eid1305.061275> Shipp G, Dickson J. The establishment
 25. Teuber M. Veterinary use and antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology.[Internet]. 2001 [Citado 16 de abril del 2018];4:493-499.Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00241-1](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00241-1)
 26. San Martin B, Lapierre L, Cornejo J, Bucarey S. Characterization of antibiotic resistance genes linked to class 1 and 2 integrons in strains of Salmonella spp. isolated from swine. Canadian Journal Of Microbiology [Internet]. 2008[Citado septiembre 7 del 2017]; 54: 569-576.Disponible en: doi: 10.1139 / w08-045.

27. Salmonella Homepage | CDC [Internet]. Cdc.gov. 2017. [citado 13 dic 2017]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>
28. Courvalin P. Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics. Digestive and Liver Disease.[internet].2006 [Citado 16 de abril del 2018];38: 261–265.Disponible en: DOI: 10.1016 / S1590-8658 (07) 60006-1
29. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015. Ampicilina y subtalactam; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a693021-es.html>.
30. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Ceftazidime; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a686007-es.html>
31. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Tetraciclina; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a682098-es.html>
32. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Cefuroxima; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a601206-es.html>
33. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Azitromicina; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a697037-es.html>
34. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Cefoxitina; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a682737-es.html>
35. Biblioteca Nacional de Medicina [Internet] EE.UU;2015.Inepinem; [Citado 19 de mayo 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a686013-es.html>.
36. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson G, Merenstein D, Pot B et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology [Internet]. 2014 [Ciatdo 7 de septiembre del 2017];11:506-514.Disponible en : doi 10.1038 / nrgastro.2014.66
37. Jurado H, Aguirre D, Ramirez C. Rev.MVZ. Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos [Internet]. 2009 [Citado 7 de septiembre del 2017];14:1723-1735.Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000200009&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0122-0268.
38. Deriu E, Liu J, Pezeshki M, Edwards R, Ochoa R, Raffatellu M, et al. Probiotic Bacteria Reduce Salmonella Typhimurium Intestinal Colonization by Competing for Iron. Cell Host & Microbe [Internet].2013 [Citado 17 de septiembre del 2017]; 14:26-37.
39. Wan L, Chen Z, Shah N, El-Nezami H. Modulation of Intestinal Epithelial Defense Responses by Probiotic Bacteria. Critical Reviews in Food Science and

- Nutrition[Internet]. 2015 [Citado 16 de abril del 2018];56 :2628-2641.Disponible en: doi:10.1080/10408398.2014.905450.
40. Rondon Lisett, Añez Zavala Maria, Salvatierra Hidalgo Anadina, Meneses Barrios Ruth Teresa, Heredia Rodriguez Maria Teresa. Probióticos: generalidades. Arch Venez Puer Ped [Internet]. 2015 [citado 2018 Abr 26] ; 78: 123-128. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000400006&lng=es.
 41. P. Kanjan, T. Hongpattarakere. (2017). Prebiotic efficacy and mechanism of inulin combined withinulin-degrading Lactobacillus paracasei I321 in competition with Salmonella. Carbohydrate Polymers 169 (2017) 236–244.
 42. Potočnjak, M., Pušić, P., Frece, J., Abram, M., Janković, T., & Gobin, I. (2017). Three New Lactobacillus plantarum Strains in the Probiotic Toolbox against Gut Pathogen Salmonella enterica Serotype Typhimurium. Food Technology and Biotechnology [Internet]. 2017 [Citado 16 de abril del 2018]; 55: 48–54. Disponible en: <http://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4693>
 43. Jurado H, Ramirez C, Martinez J. In vivo evaluation of Lactobacillus plantarum as an alternative to antibiotics uses in piglets. Rev.MVZ [Internet].2013 [citado 19 de mayo del 2018]; 3648-3657.
 44. Szabo I, Wieler L, Tedin K, Scharek-Tedin L, Taras D, Hensel A et al. Influence of a Probiotic Strain of Enterococcus faecium on Salmonella enterica Serovar Typhimurium DT104 Infection in a Porcine Animal Infection Model. Applied and Environmental Microbiology[Internet]. 2009 [Citado 26 de abril del 2018];75:2621-2628.Disponible en: doi:10.1128/AEM.01515-08
 45. Pires A, Funk J, Lim A, Bolin S. Enumeration of Salmonella in Feces of Naturally Infected Pigs. Foodborne Pathogens and Disease [Internet]. 2013 [Citado 16 de abril del 2018];10:933-937. Disponible en: DOI: 10.1089/fpd.2013.1547.
 46. Klose V, Bayer K, Bruckbeck R, Schatzmayr G, Loibner A. In vitro antagonistic activities of animal intestinal strains against swine-associated pathogens. Veterinary Microbiology [Internet]. 2010[Citado 16 de abril del 2018] ;144:515-521.Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.02.025>.
 47. Maneewan, Chamroon & Yamauchi, Koh-en & Thirabunyanon, Mongkol & Siri, Suthut & Mekbungwan, Apichai & Thongwittaya, Narin. Development of Bacillus subtilis MP and Effective Utilization on Productivity and Microorganisms in Feces of Suckling Piglets. International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine [Internet] .2009[Citado 16 de abril del 2018]; 9:382-387.
 48. Willey, J. M., & Van der Donk, W. A. Lantibiotics: Peptides of Diverse Structure and Function. Annual Review Of Microbiology[Internet]. 2009 [Citado 16 de abril del 2018]; 61: 477-501.Disponible en: doi:10.1146/annurev.micro.61.080706.093501.
 49. Núcleo proteico [Internet]. Colombia: 2018. Tabla de comportamiento de cerdos en precebo [Citado 19 de mayo del 2018]. Disponible en: <http://www.cipa.com.co/productos-cipa/porcicultura/nucleo-proteico/>
 50. Haghghi, H. R., Abdul-Careem, M. F., Dara, R. A., Chambers, J. R. & Sharif, Cytokine gene expression in chicken caecal tonsils following treatment with probiotics and Salmonella infection. Veterinary Microbiology [Internet].2008[Ciatdo 16 de abril del 2018]: 126: 225–233.

11. ANEXOS

Análisis de varianza tukey para la curva de *Salmonella* entérica ATCC 13075

HSD Tukey ^{a b}		
Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05
5,00	3	8,1447
2,00	3	8,6687
3,00	3	8,6697
7,00	3	8,6905
4,00	3	8,8233
6,00	3	9,2917
1,00	3	9,3388
sig		0,369

Análisis de varianza tukey para la curva de *Salmonella* ensayo alimentado

Hora 2

HSD Tukey ^{a-b}				
Subconjuntos homogéneos				
Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05		
		1	2	3
2,00	3	5,544		
1,00	3	5,6781		
3,00	3		7,0365	
4,00	3			8,7727
Sig		917	1	1

HSD Tukey ^{a-b}				
Subconjuntos homogéneos				
Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05		
		1	2	3
2,00	3	7,7043		
1,00	3	7,9915		
4,00	3		12,699	
3,00	3			15,0402
Sig		854	1	1

Hora 12

Hora 24

HSD Tukeya-b				
Subconjuntos homogéneos				
Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05		
		1	2	
2,00	3	7,5316		
1,00	3	8,1232		
3,00	3		11,9732	
4,00	3		12,3597	
Sig		261	581	

Hora 36

HSD Tukeya-b				
Subconjuntos homogéneos				

Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05		
		1	2	3
2,00	3	4,1366		
1,00	3		9,0568	
3,00	3		9,5709	9,5709
4,00	3			10,4177
Sig		1	379	86

Hora 48

HSD Tukeya-b				
Subconjuntos homogéneos				
Cepa	N	Subconjunto para alfa =0,05		
		1	2	
2,00	3	6,718		
1,00	3	7,8352		
4,00	3		9,396	
3,00	3		9,5412	
Sig		366	108	