



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**AISLAMIENTO Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE  
*Salmonella* spp. EN CERDOS PROVENIENTES DE  
PLANTELES ANIMALES BAJO CERTIFICACIÓN OFICIAL  
FAENADOS EN LA REGIÓN METROPOLITANA**

**MARÍA CATALINA TORRES CÉSPEDES**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Medicina  
Preventiva Animal

**PROFESOR GUÍA: DRA. CONSUELO BORIE POLANCO**

SANTIAGO, CHILE  
2008

**Este estudio fue financiado parcialmente por el proyecto Fondecyt N° 1060569 y por la Planta Faenadora Agrícola Industrial Lo Valledor AASA S.A.**

## ÍNDICE

<b>SUMMARY.....</b>	<b>2</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>7</b>
<b>1.- Conceptos generales asociados a <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>7</b>
<b>2.- Epidemiología.....</b>	<b>8</b>
<b>3.- <i>Salmonella</i> spp. y resistencia antimicrobiana.....</b>	<b>12</b>
<b>4.- <i>Salmonella</i> spp. y su impacto en la industria alimentaria.....</b>	<b>15</b>
<b>5.- <i>Salmonella</i> spp. y su impacto en las exportaciones.....</b>	<b>18</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>22</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>22</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODO.....</b>	<b>23</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>45</b>

## SUMMARY

During the last decades, *Salmonella* spp. has emerged as one of the main foodborne pathogens, in Chile and worldwide, affecting not only the public health, but also generating an important problem in the international trade.

The aim of this study was to determine the presence of *Salmonella* spp. in 5 pig farms under official certification, whose animals are slaughtered in the Metropolitan Region. These farms were denoted as "A", "B", "C", "D" and "E". From each farm 55, 58, 59, 59 and 59 pigs were sampled respectively (total=290).

At slaughterhouse, to detect *Salmonella* spp. two samples (large intestine content and mesenteric lymph nodes) were obtained from each pig, by traditional culture, using tetrathionate broth enrichment at 42°C for 48 - 72 hours, and streaked on agar XLD at 42°C for 24 hours. In addition, only one isolated of *Salmonella* spp. per pig, was tested for antimicrobial susceptibility against a panel of nine antimicrobials, by the plate diffusion method.

*Salmonella* spp. was isolated in all farms; in farm "A" there were 13 (23.6%) positive pigs, in "B" 7 (12.1%), in "C" 5 (8.5%), in "D" 27 (45.8%) and in "E" 15 (25.4%) positive pigs. Regarding the frequency of isolation, according type of sample, 29 (35%) strain were obtained from faeces, 23 (28%) from mesenteric lymph nodes and 30 (37%) from faeces and mesenteric lymph nodes simultaneously. There was not statistical differences in the percentage of isolation between faeces and mesenteric lymph nodes ( $P=0.4808$ ), presenting a moderate agreement ( $Kappa=0.4860$ ). According antimicrobial susceptibility test, 65 of 67 isolated *Salmonella* strains (97%) were resistant at least at one antimicrobial, and 30 (46.2 %) were resistant to more of one antimicrobial. Higher levels of resistance were observed to oxytetracycline, amoxicillin and association amoxicillin/clavulanic acid, with resistance values between 100 and 34 %. Seven resistance profiles were detected, the simple resistance to oxytetracycline was the most frequent.

In accordance with these results, it is possible to conclude that *Salmonella* spp. was present in the five farms under official certification, and that it is better to analyze both, faeces and mesenteric lymph nodes, to detect a positive pig to *Salmonella* spp. Also, exists a high percentage of resistant and multiresistant *Salmonella* strains, isolated from pigs.

## RESUMEN

Durante las últimas décadas, *Salmonella* spp. se ha convertido en uno de los principales patógenos productores de enfermedades transmitidas por los alimentos, en Chile y el mundo, afectando no sólo la salud de las personas, sino también generando un importante problema en el comercio internacional.

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *Salmonella* spp. en 5 Planteles Porcinos Bajo Certificación Oficial que faenan sus animales en la Región Metropolitana. Se identificaron como plantel “A”, “B”, “C”, “D” y “E” y en ellos se muestrearon 55, 58, 59, 59 y 59 cerdos respectivamente (290 animales en total). De cada cerdo a su vez, se extrajeron dos muestras, una de contenido de intestino grueso y la otra de linfonódulos mesentéricos, para detectar la presencia de *Salmonella* spp. mediante cultivo convencional, considerando enriquecimiento en caldo tetracionato a 42°C por 48 – 72 horas y siembra en agar XLD a 42°C por 24 horas. Adicionalmente, a sólo una cepa de *Salmonella* spp. por cerdo, se le realizó una prueba de susceptibilidad antimicrobiana, mediante el método de difusión en placa Kirby-Bauer, frente a un panel de nueve antimicrobianos.

En los cinco planteles analizados fue posible aislar *Salmonella* spp.; en el plantel “A” se obtuvo 13 (23,6%) cerdos positivos, en el “B” 7 (12,1%), en el “C” 5 (8,5%), en el “D” 27 (45,8%) y, en el “E” 15 (25,4%) cerdos positivos. Respecto a la frecuencia de aislamiento según tipo de muestra, se obtuvo 29 (35%) cepas desde heces, 23 (28%) desde linfonódulos y 30 (37%) desde heces y linfonódulos a la vez. El porcentaje de aislamiento sólo desde heces y sólo desde linfonódulos no fue diferente ( $P=0,4808$ ), presentando una concordancia moderada ( $kappa=0,4860$ ). En relación a la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, de las 67 cepas aisladas, 65 (97%) fueron resistentes al menos a un antimicrobiano y 30 (46,2%) de ellas presentaron resistencia a dos o más antimicrobianos. Los mayores niveles de resistencia se observaron frente a Oxitetraciclina, Amoxicilina y la asociación Amoxicilina + Ácido Clavulánico, con rangos de resistencia entre 100 y 34%. Se

detectaron 7 perfiles de resistencia, siendo el más frecuente la resistencia simple frente a Oxitetraciclina.

De acuerdo a estos resultados, se puede concluir que *Salmonella* spp. está presente en los planteles analizados y que para detectar a un cerdo positivo a *Salmonella* spp., es mejor analizar muestras de heces y linfonódulos en conjunto. También es posible concluir que existe un alto porcentaje de resistencia y multiresistencia a los antimicrobianos, en las cepas de origen porcino.

## INTRODUCCIÓN

La inocuidad de los alimentos es un concepto al cual los consumidores cada vez prestan más atención, lo que ha redundado en una mayor preocupación por parte de los productores, en generar alimentos que no se conviertan en vectores de enfermedades. Los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) tienen como uno de sus principales responsables a *Salmonella* spp., patógeno bacteriano que está fuertemente ligado al quehacer productivo animal en todas sus etapas. Dentro de las especies de abasto que pueden ser portadoras de este enteropatógeno se encuentran los cerdos, considerados potenciales reservorios y fuente de contaminación cruzada. Actualmente la salmonelosis constituye un grave problema para la salud humana, no sólo por el cuadro clínico que producen, sino también por los elevados niveles de multiresistencia a antimicrobianos, lo que dificulta y encarece las terapias.

*Salmonella* spp. es un problema real en Chile, y lejos de ir disminuyendo, su prevalencia la ha consolidado durante la última década como una zoonosis endémica, constituyendo especial riesgo para aquellas personas más susceptibles como niños y ancianos. Si bien, en el país la mayoría de los brotes por *Salmonella* spp. se han asociado al consumo de productos de origen aviar, algunos de ellos sin embargo, se han relacionado con el consumo de carne porcina. Un estudio reciente realizado en la Región Metropolitana, encontró que aproximadamente un 5% de los cerdos faenados portaban *Salmonella* spp. en sus heces y, en un elevado porcentaje de las cepas se observó multiresistencia a diversos antimicrobianos.

El objetivo de este estudio fue presentar evidencia objetiva de la existencia de *Salmonella* spp. en cerdos provenientes de Planteles Animales Bajo Certificación Oficial (PABCO) y caracterizar su susceptibilidad frente a diversos antimicrobianos.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Conceptos generales asociados a *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa, perteneciente a la Familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos cortos, no esporulados y móviles, gracias a sus flagelos peritricos. Según el esquema de Kauffman White, existen más de 2400 serotipos determinados por los antígenos somático (O), flagelar (H) y capsular (Vi) (Parra *et al.*, 2002). El género está compuesto por dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica* que a su vez se divide en 6 subespecies, *enterica*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica* y *salamae* (Tindall *et al.*, 2005). De éstas, la subespecie *enterica* contiene el 99% de los serotipos aislados de muestras clínicas (Parra *et al.*, 2002). Si bien la nomenclatura correcta para nombrar, por ejemplo, al serotipo Typhimurium es *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhimurium, por motivos prácticos se abrevia como *Salmonella* Typhimurium o *Salmonella* serotipo Typhimurium.

La importancia clínica de *Salmonella* spp. se debe a que es capaz de afectar a un gran número de especies, entre ellas el hombre. La infección se asocia solamente a una fracción de la gran diversidad de los serotipos existentes en este género. En los seres humanos, los cuadros clínicos producidos pueden clasificarse en 2 grandes grupos de acuerdo a la etiología; por un lado aquellos en que está involucrada *Salmonella* Typhi y Paratyphi, que son las que producen la fiebre tifoidea, y son relacionadas con el déficit de saneamiento ambiental, en donde el ser humano es el reservorio. El segundo grupo, los producidos por las llamadas salmonelas no tíficas, cuya principal manifestación clínica es una enterocolitis asociada principalmente con el consumo de alimento contaminado, en donde los animales domésticos juegan un rol importante en la transmisión (Fica *et al.*, 2001).

En general, los cuadros infecciosos producidos por este patógeno presentan tres formas clínicas. En primer lugar están los producidos por aquellos serotipos muy adaptados al hospedero, que se manifiestan con cuadros sistémicos, incluso con formas granulomatosas viscerales. Otra forma de presentación es la ocasionada por serotipos, que aún siendo

invasivos, tienden a producir infecciones localizadas en determinadas vísceras, meninges, huesos, articulaciones y cavidades serosas. En tercer lugar están los cuadros clínicos producidos por aquellas salmonelas muy ubicuas, que pueden encontrarse en un gran número de animales, donde la principal manifestación es intestinal, generando cuadros de enteritis aguda, no muy graves y con periodos de incubación cortos (Goyache y Briones, 2002).

Existen serotipos de *Salmonella* adaptados al hospedero, es decir, afectan a una especie animal en particular, causando principalmente abortos y cuadros severos de gastroenteritis. Estos serotipos son considerados menos patógenos para los seres humanos, sin embargo cuando logran infectar a una persona, pueden generar una septicemia aguda. Algunos serotipos adaptados son: *S. Abortus ovis*, en ovinos; *S. Choleraesuis*, en cerdos; *S. Gallinarum*, en aves de corral; *S. Abortus equi* y *S. Dublin*, en bovinos (Forshell y Wierup, 2006).

### **Epidemiología:**

*Salmonella* spp., debido a que es una bacteria entérica, se encuentra ampliamente distribuida en el medio ambiente, sobretodo en aquellos lugares que pueden contaminarse con heces, como por ejemplo agua proveniente de granjas o aguas residuales no tratadas (OIE, 2004). Es capaz de sobrevivir en el medio ambiente por largos periodos, ya que resiste bien la congelación y la desecación, siendo capaz de multiplicarse en un amplio rango de temperaturas, 7 a 47 °C, con pH entre 4 a 9 y una actividad de agua (aw) mínima descrita de 0,93 a 0,95. Sin embargo el calor, la luz y los desinfectantes comunes inactivan a *Salmonella* spp. y los medios con pH ácido afectan su supervivencia (Goyache y Briones, 2002; ICMSF, 1980; Carlier *et al.*, 1985).

La salmonelosis humana es una de las enfermedades zoonóticas más comunes e importantes en el mundo. Si bien *Salmonella* spp. ha sido aislada en todo el mundo, es más prevalente en las áreas de producción animal intensiva, causando enfermedad clínica y/o,

generando portadores asintomáticos. Esto último, constituye una situación muy relevante en la epidemiología de esta enfermedad, ya que contribuye a la diseminación de la bacteria dentro y entre lotes, convirtiendo a estas especies animales, en fuentes de contaminación para los alimentos y las personas (OIE, 2004).

Dentro de los alimentos que más se asocian a *Salmonella* spp., están los productos cárneos, los cuales son una de las principales fuentes de infección en las personas. La infección se produce cuando los animales, que adquieren la infección a través de otros animales, alimento o, del medio ambiente, excretan la bacteria a través de sus heces, las que a su vez pueden contaminar las canales en el faenamiento. Otras rutas por las cuales se puede adquirir esta bacteria, es cuando está presente en los huevos o, cuando se elimina a través de la leche. Los animales silvestres, como los roedores, también pueden actuar como portadores y diseminadores de la infección, incluso en reptiles, como iguanas y tortugas, es posible aislar con frecuencia esta bacteria. Frutas y vegetales contaminados con heces, son a menudo responsables de brotes de salmonelosis humana (Warwick *et al.*, 2001; Forshell y Wierup, 2006).

*Salmonella* spp. puede hallarse contaminando diferentes tipos de carnes, como las de vacuno, cerdo, cordero y pollo. La carne contaminada con este enteropatógeno representa un riesgo para la salud humana, el que se ve exacerbado si existen fallas en la manipulación de estos productos, tanto a nivel comercial como en el hogar (Humphrey y Jorgensen, 2006). Dentro de los factores que pueden aumentar el riesgo de contaminación de las carnes, se encuentran el transporte y el tiempo de espera previo a la faena. Muchas veces, los animales de abasto, llegan a la planta faenadora presentando en sus heces niveles de salmonela más altos de los que tenían en el plantel. Este fenómeno fue estudiado por Hurd *et al.* (2002), quienes compararon la prevalencia de salmonela y sus serotipos, en cerdos sacrificados en el plantel con los sacrificados en la planta faenadora. Los resultados obtenidos revelaron que la prevalencia de la infección en los cerdos faenados en planta faenadora, fue mucho mayor (39,9%) que la de aquellos faenados en los planteles (5,3%), indicando que el transporte y el tiempo de espera en los corrales, previo al beneficio, influyen significativamente en la diseminación de la bacteria. Debido a esto, esta etapa

debe ser considerada como un punto de control importante en la cadena de producción. Con respecto a los serotipos, se encontró mayor diversidad en el grupo de animales sacrificado en la planta faenadora, lo que indica que estos cerdos se infectaron con nuevos serotipos fuera del plantel. En este sentido, Rostagno *et al.* (2003) analizaron el ambiente al que están expuestos los cerdos previo al faenamiento, determinando que los corrales y el agua de bebida, están altamente contaminados, convirtiéndose en potenciales fuentes de infección de *Salmonella* spp. para los animales. Esta situación aumenta la posibilidad de que estos individuos infectados contaminen sus canales al beneficio y a su vez, a las personas que la consumen.

La diseminación de salmonela a través de la carne contaminada de diversas especies animales es un hecho ampliamente conocido. Dicha relación fue estudiada durante los años 2000 a 2002 en Yucatán, México. En este estudio se determinó la prevalencia de *Salmonella* no tífica en cinco grupos: en personas sanas y enfermas y, en carne de venta al por menor de cerdo, pollo y vacuno. Además, se determinaron los principales serotipos aislados desde cada fuente y la relación genética de las cepas aisladas desde las personas con las aisladas desde carne para consumo. Los resultados mostraron que *Salmonella* Typhimurium fue el serotipo más frecuentemente encontrado en personas enfermas con 21,8% de los aislados, seguido de *Salmonella* Agona con 20%; *Salmonella* Enteritidis fue aislada en menor proporción con sólo 4,2%. Los niños asintomáticos analizados fueron portadores de *Salmonella* Agona con 21% de los aislados, *Salmonella* Meleagridis con 11,6%, *Salmonella* Anatum con 8% y *Salmonella* Enteritidis con 5,8%. Un alto porcentaje de las muestras de carne fueron positivas a *Salmonella*, dentro de las cuales la de cerdo ocupó el primer lugar con 58,1% de las muestras obtenidas, seguido por la carne de vacuno con 54% y la de pollo con 39,7%. *Salmonella* Agona y *Salmonella* Meleagridis fueron los serotipos aislados más comunes dentro de los cinco grupos de muestras analizadas. Con respecto al análisis genético de las cepas aisladas desde las personas enfermas y niños asintomáticos, éstas fueron idénticas o muy relacionadas con aquellas aisladas desde la carne cruda de las especies animales estudiadas (Zaidi *et al.*, 2006).

En Chile, un estudio realizado por Figueroa (2007), reveló que en la vigilancia epidemiológica que realiza la Secretaría Regional Ministerial (SEREMI) Metropolitana de Salud Ambiental entre los años 2001 y 2006, los productos cárneos eran los que presentaban los mayores niveles de contaminación con *Salmonella* spp., en comparación al resto de los alimentos analizados. Situación similar ocurre en relación a los casos de toxiinfecciones alimentarias, en donde este patógeno fue aislado en mayor proporción desde los restos de alimentos cárneos relacionados con los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs).

Los casos chilenos producidos por este enteropatógeno han experimentado un cambio notable durante los últimos años, así en la década del '80 los casos de fiebre tifoidea eran mucho más frecuentes que los de salmonelosis, situación que se invirtió a mediados de los años '90. Este cambio se debería gracias a las medidas de saneamiento ambiental implementadas, generando un perfil epidemiológico propio de países industrializados, donde los casos producidos por este patógeno se deben principalmente a brotes asociados a toxiinfecciones alimentarias. Esto quedó demostrado en un estudio realizado por Fica *et al.* (1997) que recogieron datos entre los años 1973 y 1995, evidenciando que los casos producidos por *Salmonella* Enteritidis se mantuvieron en niveles estables entre 1973 y 1993, con un promedio de casos por año de 13,67. Sin embargo, en 1994 se produjo un brote epidémico con un alza explosiva de casos a 478, un 3400% superior con respecto al promedio anterior. Lo contrario ocurrió con los casos de fiebre tifoidea, que durante muchas décadas presentaron tasas estables y propias de una condición hiperendémica (40 a 50 casos por 100.000 habitantes), que luego, en 1977, se transformó en una epidemia que duraría 10 años, donde en ocasiones se alcanzaron cifras de 120 casos por 100.000 habitantes. Esta situación fue disminuyendo progresivamente hasta que en el año 1997 el número de casos fue de 10 por 100.000 habitantes (Fica *et al.*, 2001).

### **Salmonella spp. y resistencia antimicrobiana:**

La relación entre *Salmonella* spp. y los antimicrobianos, no es sencilla, generando gran controversia entre quienes defienden su uso y los que miran con gran desconfianza su utilización en producción animal.

Por un lado, estas drogas son de gran utilidad frente a los casos complicados de salmonelosis humana, aunque su uso no está indicado en la mayoría de los cuadros de gastroenteritis. Además, algunos estudios han demostrado que aquellas personas tratadas con antimicrobianos, eliminan la bacteria por más tiempo que aquellas no tratadas con estas drogas (Murase *et al.*, 2000). Situación similar se observa en los cuadros de salmonelosis animal, en donde muchas veces, la administración de estas drogas se realiza frente a brotes dentro de un rebaño, con la finalidad de tratar a los enfermos y evitar la diseminación entre los animales expuestos. Sin embargo, no siempre son efectivos, ya que se ha visto que su administración, no tiene efecto en reducir la prevalencia, magnitud y extensión del periodo de excreción de la bacteria (Forshell y Wierup, 2006).

El fenómeno de la resistencia antimicrobiana aparece como un efecto colateral inevitable al uso de estas drogas y constituye un grave problema en la salud pública, debido a que bacterias resistentes, patógenas o comensales, que se encuentran en muchas especies animales de abasto, podrían ser transmitidas a los seres humanos a lo largo de la cadena de producción de alimentos o, transferir genes de resistencia a enteropatógenos zoonóticos, como *Salmonella* spp. La gravedad de este hecho radicaría principalmente, en que cuando estos patógenos afectan la salud de las personas, los tratamientos con antimicrobianos no siempre son eficaces, aumentando los fracasos terapéuticos, reduciendo las alternativas de tratamiento y aumentando las tasas de mortalidad (McEwen y Fedorka-Cray, 2002; Molbak, 2005).

Al respecto, hay quienes postulan, que si bien el uso de antimicrobianos en los animales produce resistencia en sus bacterias, ésta tendría consecuencias poco relevantes comparada con la que se origina en los mismos seres humanos, los cuales en sus deposiciones,

eliminarían microorganismos resistentes al medio ambiente infectando a los animales domésticos y silvestres (Phillips *et al.*, 2004). Este argumento no es ampliamente aceptado y es cuestionado por estudios como el de Aarestrup *et al.* (2001), quienes estudiaron el efecto de la prohibición de los antimicrobianos como promotores del crecimiento en los animales, obteniendo que los niveles de resistencia disminuyeron significativamente después de esta medida. En este sentido, aunque la prohibición de estas drogas como promotores de crecimiento genera grandes pérdidas económicas por menor productividad (Phillips *et al.*, 2004), los efectos negativos sobre la salud de las personas priman al momento de evaluar el costo-beneficio de su uso. Además, la administración de antimicrobianos con fines terapéuticos o de promoción del crecimiento, en algunas especies productivas, puede provocar alteraciones en la flora intestinal normal, aumentando la susceptibilidad a contraer *Salmonella* spp. o, aumentando el riesgo de que cepas resistentes de *Salmonella* spp. contaminen las canales (EFSA, 2004; Forshell y Wierup, 2006).

Dentro de las especies animales que participan en la diseminación de cepas resistentes a *Salmonella* spp., el cerdo posee gran importancia, debido a que en diversas investigaciones, se han aislados desde esta especie animal, altos porcentajes de cepas multiresistentes. Molla *et al.* (2006) en Etiopía, analizaron cerdos a nivel de matadero, obteniendo un 73% de multiresistencia en las 94 cepas obtenidas. Estos altos niveles de resistencia se repiten en otros estudios, como el realizado por Zaidi *et al.* (2006), que a partir de 296 cepas aisladas desde carne de cerdo en México, encontraron altos porcentajes de resistencia para Tetraciclina (77,3%) y Estreptomicina, (77%), y niveles de resistencia menores en antimicrobianos con importancia terapéutica como Sulfametoxazol + Trimetoprim (24%), Ampicilina (21,3%) y, Cloranfenicol (19,3%).

El fenómeno de la multiresistencia, se ve agravado por la emergencia de cepas resistentes a fluoroquinolonas, que son los antimicrobianos de elección frente a un amplio número de infecciones en el ser humano. La resistencia a este tipo de antimicrobiano, comenzó a aparecer junto con su uso en medicina veterinaria a fines de los '80 en Europa, desde entonces se ha diseminado en diversos países (Bager y Helmuth, 2001). En Taiwán, Chang *et al.* (2005) realizaron un estudio donde aislaron cepas de *Salmonella enterica* serotipo

*Choleraesuis* desde cerdos, que fueron resistentes a diversos antimicrobianos, entre ellos, Ciprofloxacino. En este estudio, encontraron que de 199 cepas de *Salmonella Choleraesuis* aisladas desde cerdos (157) y seres humanos (42), un 29% era resistente a tres tipos de Fluoroquinolonas (Ciprofloxacino, Enrofloxacino y Norfloxacino), 95% a Ampicilina, 1% a Cefalotina, 96% a Cloramfenicol, 47% a Gentamicina, 99% a Ácido Nalidíxico, 47% a Nitrofurantoína, 61% a Estreptomicina, 97% a Tetraciclina y, un 42% a la asociación Trimetoprim + Sulfametoxazol. En Dinamarca, la emergencia de multiresistencia, incluida a quinolonas, quedó de manifiesto por primera vez en un brote de salmonelosis asociado a carne de cerdo, ocurrido en el año 1998. En este brote hubo 25 casos confirmados, de los cuales 2 murieron. La cepa de salmonela identificada como responsable, fue *Salmonella Typhimurium* fagotipo DT 104, resistentes a quinolonas (Molbak *et al.*, 1999).

*Salmonella Typhimurium* fagotipo DT104, fue aislada por primera vez en el Reino Unido a principios de los '80. Esta cepa es resistente a cinco tipos de antimicrobianos (Ampicilina, Cloranfenicol, Estreptomicina, Sulfonamidas y Tetraciclinas) y durante los últimos años, se ha diseminado alrededor del mundo, así, en 1992 el 8,7% de los aislados de *S. Typhimurium* correspondían a DT 104, aumentando, en 2001, a un 33% (Helms *et al.*, 2005). La gravedad de la emergencia de *Salmonella Typhimurium* DT104, radica en que aumentaría la tasa de mortalidad. Un estudio realizado entre individuos infectados con esta cepa pentaresistente, en Dinamarca, determinó que la probabilidad de morir de este grupo es 4,8 veces mayor que la población general, valor que se incrementa a 10,3 si además es resistente a quinolonas (Helms *et al.*, 2002).

Afortunadamente, en Chile aún no se ha informado la presencia de *Salmonella Typhimurium* DT104, sin embargo no está ajeno al problema de la multiresistencia antimicrobiana, ya que algunas investigaciones han encontrado cepas con altos niveles de resistencia, incluso a quinolonas. Bravo (2004) demostró que de las 60 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de cerdos, el 83,4% era resistente al menos a un antimicrobiano, y un 73% a dos o más. Los mayores porcentajes de resistencia se observaron para Estreptomicina (50%), luego Oxitetraciclina (49%), seguidos por Ácido Nalidíxico y Ácido Oxolínico (25%). El perfil de multiresistencia más común fue la asociación

Estreptomicina/Tetraciclina con un 40% del total de los aislados, seguido por el perfil de Ácido Oxolínico/Flumequina/Ácido Nalidíxico con un 24%. Por otro lado el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), organismo oficial que realiza la vigilancia de la resistencia antimicrobiana en *Salmonella* spp., encontró que las 838 cepas estudiadas durante el año 2005 (aisladas desde personas), presentaron algún grado de resistencia a Ampicilina, Amoxicilina, Cloramfenicol, Sulfas + Trimetoprim y Ácido Nalidíxico (ISP, 2005). Además, de acuerdo a la red de monitoreo de resistencia antimicrobiana de la Organización Panamericana de Salud (OPS), que recibe el reporte del ISP, en su informe anual del año 2005, pone en evidencia la existencia de resistencia a Ciprofloxacino en cepas aisladas desde seres humanos y, Enrofloxacin en cepas aisladas desde animales (OPS, 2005).

Skov *et al.* (2007) realizaron un estudio relacionado con la diseminación de la resistencia antimicrobiana a través del comercio internacional. En dicha investigación encontraron que las cepas de *S. Typhimurium* multiresistentes locales, presentaron porcentajes de resistencia menores (6%) que aquellas aisladas desde carne importada (42%). Estos resultados indican que en el control de la resistencia antimicrobiana, no basta sólo con adoptar medidas a nivel local, sino que éstas deben ser aplicadas globalmente, debido a que en las importaciones de productos de origen animal, principalmente carnes, los países también “importan” cepas extranjeras resistentes.

### **Salmonella spp y su impacto en la industria alimentaria**

Para el control de la salmonelosis, en los seres humanos y animales, es necesario que existan acuerdos de cooperación a nivel mundial, los cuales deben abordar este problema en los diferentes niveles de la cadena de producción, evitando así la diseminación de este patógeno a través del comercio internacional. El concepto de “del campo a la mesa” enfatiza la necesidad de implementar estrictas medidas de control, que den seguridad al consumidor respecto a la inocuidad de los productos que están consumiendo (Forshell y Wierup, 2006).

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), salmonelosis entre ellas, son aquellas causadas por agentes que ingresan al organismo a través de la ingestión de un alimento. Todas las personas se encuentran en riesgo de contraer este tipo de enfermedad, sin embargo los ancianos, los niños y las personas inmunodeprimidas son más susceptibles. Estimar la incidencia mundial de las ETAs es difícil, sin embargo, en el año 2005, la Organización Mundial de la Salud (OMS), reportó que 1,8 millones de personas murieron debido a enfermedades diarreicas atribuidas, en gran parte, al consumo de alimentos o agua contaminada. En países industrializados, anualmente, un 30% de la población es afectada por alguna ETA, mientras que en países en desarrollo el escenario es más complejo debido a la escasa documentación y a la existencia de un amplio rango de ETAs, incluyendo las causadas por parásitos (WHO, 2007a).

Algunos brotes de ETAs pueden alcanzar grandes proporciones, como el de 1994 en USA, en que 224.000 personas se vieron afectadas por salmonela, en donde el alimento involucrado fue helado de crema. La contaminación de los alimentos, además, genera un importante costo económico y social en la comunidad, como en USA, donde se estima que estas enfermedades transmitidas por los alimentos producen pérdidas de unos US \$35 billones cada año debido a gastos médicos y pérdida de productividad (WHO, 2007a).

A nivel internacional *Salmonella* spp. es la bacteria que causa el mayor número de intoxicaciones alimentarias en el mundo. Esta bacteria es transmitida al ser humano generalmente a través del consumo de alimentos de origen animal contaminados, principalmente carne, pollo, huevos y leche. Los síntomas aparecen 12 a 72 horas después de la infección, con un curso de 4 a 7 días, tiempo después del cual la mayoría de las personas se recuperan sin tratamiento. Sin embargo, la terapia con antimicrobianos puede ser necesaria en ancianos, niños y en el cuadro sistémico (WHO, 2007b).

En Estados Unidos, ocurren anualmente cerca de 1,5 millones de casos de salmonelosis no tifoidea (casos confirmados y no confirmados) de los cuales un 95% son atribuidos a infecciones de tipo alimentario. Esta bacteria es, además, la principal responsable de las muertes producidas por las ETAs, con 553 muertes por año, que corresponde a un 30% del

total. Además, dentro de los agentes bacterianos relacionados con brotes de ETAs, se encuentra en segundo lugar con un 9,7% de los casos, después de *Campylobacter* spp. con un 14,2% (Mead *et al.*, 1999). Adicionalmente Voetsch *et al.* (2004), señalan que la razón estimada entre los casos de *Salmonella* no tifoidea confirmados como positivos y los no confirmados, es de 1 : 38,6. Estos antecedentes indicarían que la salmonelosis en USA actualmente es el mayor problema en salud pública.

Similar situación se observa en Santiago de Chile, ya que según un estudio realizado por Prado *et al.* (2002), durante los años 1999-2000, *Salmonella* spp. junto a *Staphylococcus aureus* fueron los agentes causales de mayor frecuencia de brotes de ETAs. En Chile la vigilancia epidemiológica de los casos de salmonelosis en las personas, es llevada a cabo por el ISP, organismo que cuenta con el Laboratorio de Referencia de Enterobacterias. Este laboratorio realiza la confirmación del agente, a partir de cepas provenientes de laboratorios clínicos públicos o privados, los cuales están obligados a notificar semanalmente los casos positivos de este patógeno. En el año 2005, el ISP, recibió 1.560 cepas de *Salmonella* spp. provenientes de todo el país, las cuales se concentraron mayoritariamente en la Región Metropolitana con 900 cepas (ISP, 2005).

En países en desarrollo, como es el caso de Chile, los sistemas de vigilancia epidemiológica deben ser fortalecidos, ya que el aumento de las exportaciones, producto de los tratados de libre comercio, hacen necesario establecer estrictas medidas de control para prevenir que *Salmonella* spp. llegue a los alimentos. Debido a esto la industria faenadora de carne para exportación ha desarrollado, en conjunto con el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), el Programa de Reducción de Patógenos, que tiene como objetivo central implementar un sistema de monitoreo oficial de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., usando a la primera como un indicador de la calidad higiénica de las canales y a *Salmonella* spp. con el propósito de evaluar el desempeño del sistema de autocontrol “Hazard Analysis and Critical Control Point” (HACCP) de la plantas faenadoras de exportación (SAG, 2005a). Sin embargo, y a pesar de estas medidas, datos de un estudio realizado por Figueroa (2007) indicarían que la aplicación del Programa de Reducción de Patógenos no ha redundado en

una disminución del número de casos de salmonelosis humana y animal, produciéndose incluso, un aumento en los hallazgos de esta bacteria en mataderos de exportación de aves.

Situación diametralmente opuesta ocurre en Dinamarca, ya que gracias al programa nacional de control de *Salmonella* spp., implementado en explotaciones e industria porcina, de pollos broiler y gallinas ponedoras, se ha logrado disminuir significativamente la incidencia de salmonelosis humana. Por ejemplo, en el año que comenzó a aplicarse este programa en la producción porcina, los casos clínicos asociados al cerdo disminuyeron de 22 por cada 100.000 habitantes en el año 1993, a 3 casos en el 2001. Además, se estimó que sólo durante el año 2001 se ahorraron US \$25,5 millones, valor que fue calculado sobre la base de que el “no-control” de salmonela costaría alrededor de US \$41 millones, considerando gastos en hospitalización, exámenes de laboratorio, consultas médicas y días no trabajados (Wegener *et al.*, 2003).

### **Salmonella spp. y su impacto en las exportaciones:**

Las exportaciones pecuarias a nivel nacional han evolucionado de manera extraordinaria durante el último tiempo, así, en los últimos diez años éstas se han multiplicado en casi siete veces, alcanzando en el año 2005 aproximadamente a US \$800 millones. Dentro de los productos pecuarios exportados destacan los de origen porcino, que representan un 44% de los envíos, seguido por los de origen avícola con un 20%, los lácteos con un 16%, los bovinos con un 10% y, otros productos como los ovinos, lana, cuero y miel que en conjunto suman 10%, siendo los principales destinos países como Japón, México y Sur Corea. No obstante, esta participación en el comercio internacional no está exenta de amenazas ya que, a pesar de la reducción de las trabas comerciales, gracias a los tratados de libre comercio, persisten aquellas de origen sanitario (Rivera, 2006).

El concepto de calidad ha ido cambiando a lo largo del tiempo, antiguamente sólo se relacionaba con producción, sin embargo, en la actualidad, la calidad debe ser

necesariamente asociada con temas de sanidad, buenas prácticas y bioseguridad, ya que los mercados de destino los incorporan también como exigencia, los cuales buscan a través de la producción de alimentos inocuos, alcanzar altos estándares de seguridad alimentaria (Meza, 2006). A raíz de esto, a nivel nacional, se hace necesario contar con instrumentos de certificación que aseguren el cumplimiento de las exigencias requeridas por los servicios veterinarios oficiales de los países de destino. En este sentido el concepto de bioseguridad cobra vital importancia ya que, además de preservar y mejorar la sanidad animal, pretende disminuir los costos sanitarios en los planteles, mejorando la productividad y, por ende, aumentando la eficiencia. Al mismo tiempo, pretende dar confianza a los mercados de destino y a sus consumidores, asegurando que el producto proviene de animales sanos, y es inocuo para su consumo (Meza, 2006).

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), ha emprendido acciones orientadas hacia el desarrollo de la bioseguridad en los productos pecuarios, creando diversos instrumentos entre los cuales se encuentra la certificación a nivel predial e industrial, como plantas procesadoras de productos lácteos y cárnicos, mediante la emisión de un certificado zoosanitario del producto, que constituye un certificado de bioseguridad desde el predio hasta el consumidor final. El Programa de Planteles Animales Bajo Certificación Oficial (PABCO) del SAG, al igual que el Programa de Reducción de Patógenos (PRP), corresponde a una de las herramientas que permite proporcionar garantía del cumplimiento de las exigencias sanitarias y de bioseguridad a los países de destino. Este programa incluye aspectos a controlar como infraestructura, registros, medicamentos veterinarios, movimientos animales, alimentación, control de plagas, bienestar animal, entre otros y, que son aplicados a nivel de las unidades de producción (Meza, 2006). Si bien ambos programas, PABCO y PRP, están orientados hacia la producción de alimentos inocuos en diferentes niveles de la cadena de producción, sólo PRP se enfoca en la disminución de la contaminación por *Salmonella* spp. a nivel de las plantas de faenamiento de exportación, mientras que PABCO es un programa de lineamientos generales aplicados sólo a nivel de plantel. En este sentido, el programa Danés de control de *Salmonella* spp. es único en el mundo, ya que integra la vigilancia de este enteropatógeno a través de toda la cadena de producción, es decir, desde el plantel hasta el consumidor, pasando por la planta de

faenamiento, logrando con esto, una importante disminución de los casos de salmonelosis en humanos (Wegener *et al.*, 2003).

Según datos del SAG (2005a), obtenidos en el marco del Programa de Reducción de Patógenos, la prevalencia nacional de *Salmonella* spp. en plantas faenadoras exportadoras de carnes blancas y rojas, en el período enero-diciembre del año 2005, fue de 2,98%. Al analizar la prevalencia por especie las cifras fueron de 0,5% en bovinos, 1,3% en pollos broilers, 7% en porcinos y 7,2% en pavos. Estos datos sitúan a la carne de cerdo junto a la de pavo, en el primer lugar.

En algunos países la carne de cerdo es una de las fuentes más importantes de salmonelosis en humanos y muchos brotes informados durante la última década han sido atribuidos a su consumo (Delpech *et al.*, 1998; Molbak *et al.*, 1999). Los estudios de prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos a nivel mundial indican que esta especie animal está siendo cada vez más considerada en la epidemiología de esta enfermedad; en Tailandia, Padungtod y Kaneene (2006), encontraron que 4 de cada 7 planteles porcinos estaban infectados con *Salmonella* spp., con prevalencias que fluctuaron entre 2% a un 25%. En otro estudio realizado por Farzan *et al.* (2006) en Canadá, determinaron prevalencias de un 0,8% a un 6% según el tipo de dieta administrada a los cerdos.

En Chile, existe escasa información publicada sobre *Salmonella* spp. en cerdos. Bravo (2004), demostró que cerdos faenados en la Región Metropolitana durante el año 2003, fueron portadores de diferentes serotipos de *Salmonella* a nivel intestinal (*S. Brandenburg*, *S. Derby* y *S. Typhimurium*). En dicho estudio se aislaron 60 cepas de *Salmonella* spp. a partir de 1200 muestras de heces porcinas. Otro estudio de la misma región, reveló que en Chile la carne de cerdo junto con la de bovinos y aves, están dentro del grupo alimentario responsable del 16,2% de los brotes, ocupando el primer lugar en importancia. Al considerar los alimentos individualmente, la carne de cerdo ocupa un 3,1% y las cecinas, elaboradas principalmente con carne porcina, un 4,6%. Especial interés se le otorgó a un brote de *Salmonella* en la Región Metropolitana que le costó la vida a un anciano que habría consumido carne de cerdo (Prado *et al.*, 2002). Estos antecedentes nacionales

indican que la carne porcina podría constituir un factor de riesgo significativo subestimado hasta ahora, ya que los brotes de salmonelosis casi siempre se asocian a los alimentos de origen avícola.

En el contexto de la situación internacional ya señalada y la escasa información nacional encontrada, es que la Planta Faenadora Agrícola Industrial Lo Valledor AASA S.A. consideró importante solicitar este estudio a la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, de manera de contar con información obtenida desde los cerdos faenados en sus instalaciones y poder evaluar objetivamente si *Salmonella* spp. constituye un problema real dentro del sistema. Este estudio brindará la posibilidad de tomar medidas desde el origen del problema y con ello, disminuir el riesgo al consumidor.

## OBJETIVOS

### A) **GENERAL:**

- Determinar la presencia de *Salmonella* spp. en cerdos provenientes de algunos Planteles Bajo Certificación Oficial del Servicio Agrícola y Ganadero.

### B) **ESPECÍFICOS:**

- Detectar la presencia de *Salmonella* spp en linfonódulos mesentéricos y contenido intestinal de cerdos provenientes de diferentes planteles bajo certificación oficial.
- Comparar la frecuencia de aislamiento de *Salmonella* spp entre linfonódulos mesentéricos y contenido de intestino grueso.
- Caracterizar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas.
- Describir la presencia de perfiles de resistencia de las cepas aisladas.

## MATERIALES Y METODO

### 1. Animales:

Se analizaron cerdos provenientes de 5 planteles bajo certificación oficial (PABCO) del Servicio Agrícola y Ganadero, cuyos nombres quedaron bajo estricta reserva por motivos de confidencialidad

La obtención de muestras se realizó en la sala de tripería de la Planta Faenadora Agrícola Industrial Lo Valledor AASA S.A., ubicada en la Región Metropolitana, y se contó con la colaboración del Médico Veterinario Dr. Jorge Muñoz, Gerente Técnico y de Producción de la Planta.

#### 1.1. Tamaño muestral:

Para obtener el tamaño muestral se utilizó una prevalencia estimada de *Salmonella* spp. en cerdos de un 5% (Bravo, 2004), y el promedio mensual de faenamiento durante el año 2005 de cada uno de los 5 planteles participantes. Este cálculo establece el tamaño mínimo de animales a analizar capaz de detectar al menos un animal positivo dentro de cada plantel (hallazgo de la enfermedad) (Cannon y Roe, 1982). Los tamaños calculados se detallan en el cuadro 1.

**Cuadro 1: Tamaño muestral requerido para detectar *Salmonella* spp. en cerdos provenientes de 5 planteles PABCO.**

Plantel	Promedio mensual de faenamiento (cabezas/mes)	N° de cerdos a analizar
A	460	55
B	2.050	58
C	4.954	59
D	4.718	59
E	6.002	59
<b>Total</b>	<b>18.184</b>	<b>290</b>

## 1.2. Tipo y obtención de las muestras:

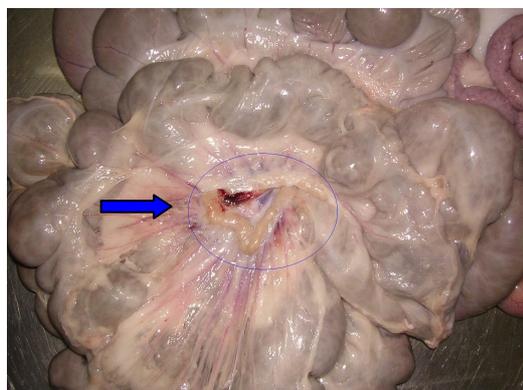
La obtención de las muestras se realizó durante el año 2006, entre los meses de mayo y diciembre. Para la identificación de los animales analizados se contó con la colaboración del jefe de faena y el encargado de corrales, quienes mediante la lista diaria de faena, corroboraban el número individual de los cerdos con sus respectivas procedencias. De cada plantel se obtuvo como máximo 15 muestras por día.

De cada animal se obtuvieron muestras de un segmento de intestino grueso, de aproximadamente 10 cm, ligado por ambos extremos (foto 1) y sus linfonódulos mesentéricos (foto 2), (4 gr. aproximadamente). Dicho procedimiento se realizó en forma aséptica evitando la contaminación cruzada. Las muestras fueron colocadas individualmente en bolsas plásticas limpias debidamente identificadas y, transportadas, a temperatura de refrigeración (4-8°C), dentro del mismo día al Laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

**Foto 1: Segmento ligado de intestino grueso de cerdo**



**Foto 2: Linfonódulos Mesentéricos**



## 2. Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.:

Al segmento de intestino grueso ligado, se le realizó un corte en el centro desde donde se obtuvo 2 gramos de heces, que se depositaron en una bolsa plástica doble y se agregó como medio de enriquecimiento caldo Tetrionato (Difco®) en razón de 1:10 aproximadamente (foto 3). Las muestras se homogenizaron por 90 segundos en un homogenizador-triturador (Masticator IUL®) e incubaron en la estufa a 42°C por 48 horas.

De la muestra obtenida de linfonódulos mesentéricos, se seleccionaron 2 gramos, los cuales fueron sumergidos en agua hirviendo durante 10 segundos (foto 4) para descontaminar su superficie (Vieira-Pinto *et al.*, 2005), luego estas muestras fueron colocadas en bolsas dobles con caldo Tetrionato en razón 1:10 aproximadamente, se trituraron y, finalmente se incubaron a 42°C por 48 horas (Davies *et al.*, 2000).

**Foto 3: Adición de caldo Tetrionato a la muestra, en proporción 1:10.**



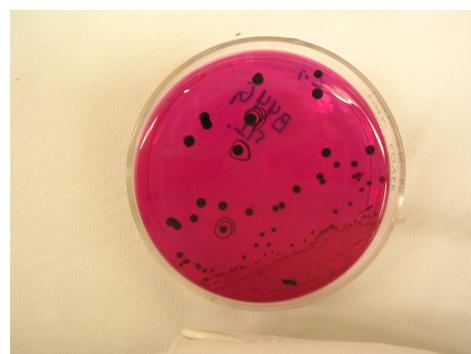
**Foto 4: Proceso de descontaminación de la superficie de linfonódulos con agua hirviendo**



De las muestras con caldo Tetracionato incubadas por 48 horas se tomaron submuestras ( 3 asas de cultivo) las que se sembraron en agar XLD (Difco®) e incubaron a 42°C por 24 horas. Después de la incubación, cuando no se observó desarrollo de colonias sospechosas (transparentes con centro negro), se repitió dicha operación a las 72 horas de incubación del caldo Tetracionato. En las placas donde se observó desarrollo bacteriano atribuible a *Salmonella* spp., es decir, colonias de centro negro y borde transparente (foto 5), se seleccionaron como máximo 10 colonias sospechosas y, se les realizó una batería de pruebas bioquímicas para su confirmación: prueba de oxidasa, desaminación de la Fenilalanina, determinación de Acetoína, crecimiento en agar Citrato de Simmon´s, prueba de Indol, prueba de la Urea y fermentación de azúcares en medio Kligler. Además, a todas las colonias cuya bioquímica fue coincidente con *Salmonella* spp., se les aglutinó con suero polivalente A-I y Vi (Difco®) de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. A toda cepa cuya bioquímica fue sospechosa y/o no aglutinó y/o autoaglutinó con el suero polivalente A-I y Vi, se le realizó una identificación rápida con el kit de diagnóstico BBL Crystal para entéricos no fermentadores (Difco®).

Para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana, fue considerada sólo una colonia por placa y, sólo una muestra positiva por animal (heces o linfonódulos).

**Foto 5: Agar XLD con crecimiento de colonias sospechosas a *Salmonella* spp.**



### **3. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana:**

Todas las cepas de *Salmonella* spp. aisladas, una por animal independiente del tipo de muestra, fueron sometidas al Método de difusión en Placa (Kirby-Bauer), de acuerdo a las normas recomendadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002).

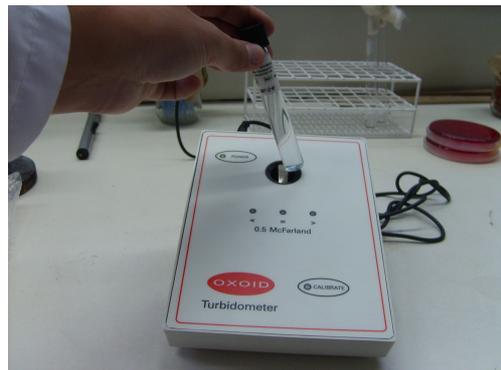
### 3.1. Preparación de Placas:

Se utilizó agar Mueller-Hinton II (Difco®), preparado de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el fabricante. Las placas de este agar debieron tener una superficie uniforme y una profundidad de aproximadamente 4 mm y se mantuvieron refrigeradas por un máximo de 7 días hasta su uso.

### 3.2. Preparación de Inóculos Bacterianos:

Las cepas en estudio y la cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922 se sembraron en caldo común para posteriormente ser incubadas a 37°C por 18 a 24 horas. Luego de este periodo, las suspensiones bacterianas fueron ajustadas, mediante la adición de suero fisiológico estéril, a una concentración equivalente al tubo n° 0,5 del nefelómetro de Mc Farland (foto 6) utilizando para ello un equipo turbidómetro (Oxoid®).

**Foto 6: Ajuste de las suspensiones bacterianas al tubo n° 0,5 de nefelómetro de Mc Farland mediante un turbidómetro.**



### 3.3. Inoculación de Placas y Aplicación de Sensidiscos:

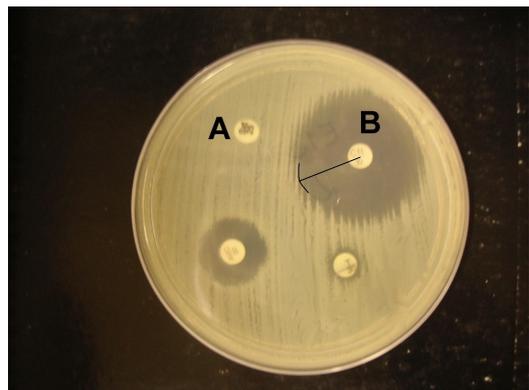
Cada suspensión bacteriana ajustada, fue sembrada uniformemente sobre la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton II usando una tórula de algodón estéril. Una vez inoculadas, las placas se dejaron secar en reposo por algunos minutos para luego colocar sensidiscos equidistantes entre sí sobre el agar. Posteriormente, fueron incubadas a 37°C por 18 a 24 horas.

### 3.4. Lectura e Interpretación de Resultados:

Mediante un vernier de precisión se realizó la lectura, en mm, del diámetro del halo inhibitorio del crecimiento bacteriano (foto 7), interpretándose como Sensible (S), Sensibilidad Intermedia (I) o Resistente (R) de acuerdo a los puntos de corte establecidos por el NCCLS (2002).

El panel de drogas analizadas fueron: Enrofloxacino (Arlab® 10 µg), Ácido Nalidíxico (Arlab® 30µg), Amoxicilina (Arlab® 25µg), Amoxicilina + Ácido Clavulánico (Arlab® 30µg), Cefotaxima (Arlab® 30µg), Estreptomycin (Arlab® 10µg), Gentamicina (Arlab® 10µg), Oxitetraciclina (Arlab® 30µg) y Sulfametoxazol + Trimetoprim (Arlab® 25µg).

**Foto 7: Método de difusión en placa.**  
**A. Ausencia de halo inhibitorio frente al sensidisco B. Presencia de halo inhibitorio frente al sensidisco.**



#### **4. Normas de bioseguridad:**

Se trabajó según los criterios de bioseguridad establecidos para enteropatógenos de nivel 2, sin gabinete de bioseguridad (CDC y NIH, 1999). Se utilizó delantal, guantes, hielera para el transporte de muestras y desinfectantes. Todos los residuos orgánicos sólidos que se produjeron durante las experiencias fueron incinerados, y los residuos líquidos fueron tratados con cloro antes de su eliminación.

#### **5. Análisis de resultados:**

Con los datos obtenidos se calculó:

- a) Porcentaje de positividad del total de los cerdos faenados, independiente del lugar de origen. Para esto se consideró a todo animal con al menos una muestra positiva, linfonódulos o heces, como portador asintomático.
- b) Número de planteles positivos a *Salmonella* spp. Un plantel fue considerado como positivo cuando presentó al menos un cerdo positivo.
- c) Comparación del aislamiento según tipo de muestra (comparación pareada), determinando concordancia mediante índice Kappa.
- d) Porcentaje de resistencia y multiresistencia de las cepas aisladas.
- e) Descripción de perfiles de resistencia de las cepas aisladas.

## RESULTADOS

Se analizó un total de 290 cerdos de los cuales se obtuvieron 580 muestras (290 heces + 290 linfonódulos), que arrojaron los siguientes resultados:

- a) Del total de cerdos analizados (290) en los cinco planteles, 67 (23,1%) de ellos fueron positivos a *Salmonella* spp., independiente del tipo de muestra.
- b) Los cinco planteles PABCO analizados fueron considerados como positivos a *Salmonella* spp. ya que, todos presentaron al menos un animal positivo. En el plantel “A” de 55 animales muestreados, se obtuvo 13 cerdos positivos; en el “B” de 58, se obtuvo 7; en el “C” de 59, se obtuvo 5; en el “D” de 59, se obtuvo 27 y por último, en el plantel “E” de 59 cerdos analizados, se obtuvo 15 cerdos positivos (cuadro 2).
- c) Según tipo de muestra, 29 (35%) cepas de *Salmonella* spp. se aislaron sólo desde heces, 23 (28%) sólo desde linfonódulos y 30 (37%) desde heces y linfonódulos (gráfico 1). Mediante la prueba de Mc Nemar, se determinó que la diferencia observada en las frecuencias de aislamiento de salmonela, en cultivo de heces y cultivo de linfonódulos, no fue significativa ( $P=0,4808$ ). El cálculo del índice Kappa estimó una concordancia moderada ( $k=0,486$ ) entre el aislamiento a partir desde sólo linfonódulos y sólo heces.  
De los 67 cerdos positivos a *Salmonella* spp., en 15 de ellos fue posible aislar la bacteria en heces y linfonódulos simultáneamente, sin embargo para el análisis de susceptibilidad antimicrobiana se seleccionó, al azar, sólo una cepa de los dos aislados en cada cerdo.
- d) En relación a la susceptibilidad antimicrobiana, de las 67 cepas de *Salmonella* spp. analizadas, 65 (97%) presentaron resistencia frente a uno o más de los 9 antimicrobianos analizados y, sólo 2 cepas (3%) fueron sensibles a todos los antimicrobianos (gráfico 2). En el análisis de multiresistencia se observó que 30

cepas (46,2%), fueron resistentes a 2 o más antimicrobianos (12,3% a 2 antimicrobianos, 24,6% a 3 antimicrobianos y 9,3% a 4 antimicrobianos). No se observó resistencia a más de 4 antimicrobianos (gráfico 3).

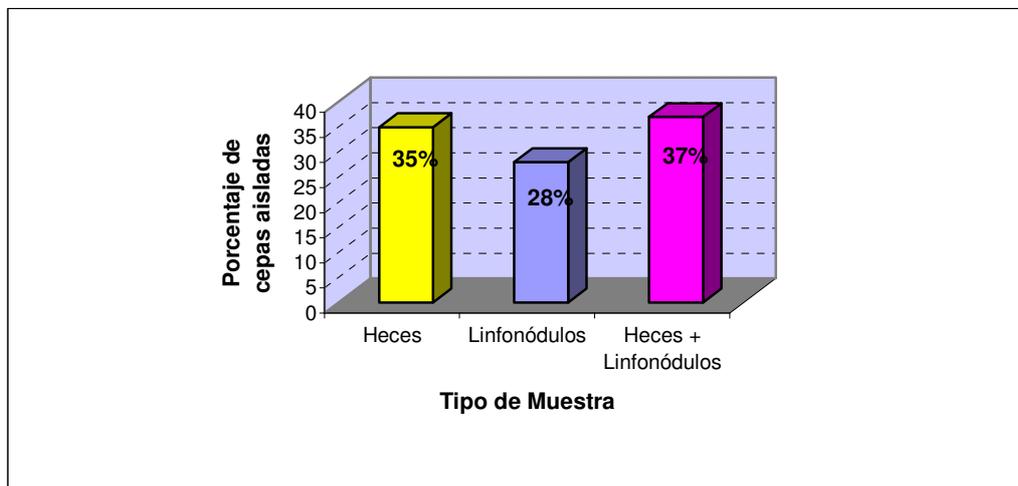
Del total de cepas resistentes a al menos un antimicrobiano (65), se pudo observar que todas fueron resistentes a Oxitetraciclina (100%), seguida por Amoxicilina en un 37% de las cepas, Amoxicilina + Ácido Clavulánico en un 34%, Sulfametoxazol + Trimetoprim en un 9%, Ácido Nalidíxico en un 5% y Estreptomina en un 2% del total de cepas resistentes (gráfico 4).

- e) Se observaron 7 perfiles de resistencia en las 65 cepas de *Salmonella* spp., de los cuales destaca la monoresistencia a Oxitetraciclina que representa más de la mitad (53,8%) de los perfiles obtenidos. La resistencia asociada entre Amoxicilina/ Oxitetraciclina/ Amoxicilina+Ác.Clavulánico también se presentó en una alta frecuencia, estando en segundo lugar con un 24,6%. Los demás perfiles se encuentran detallados en la cuadro 3.

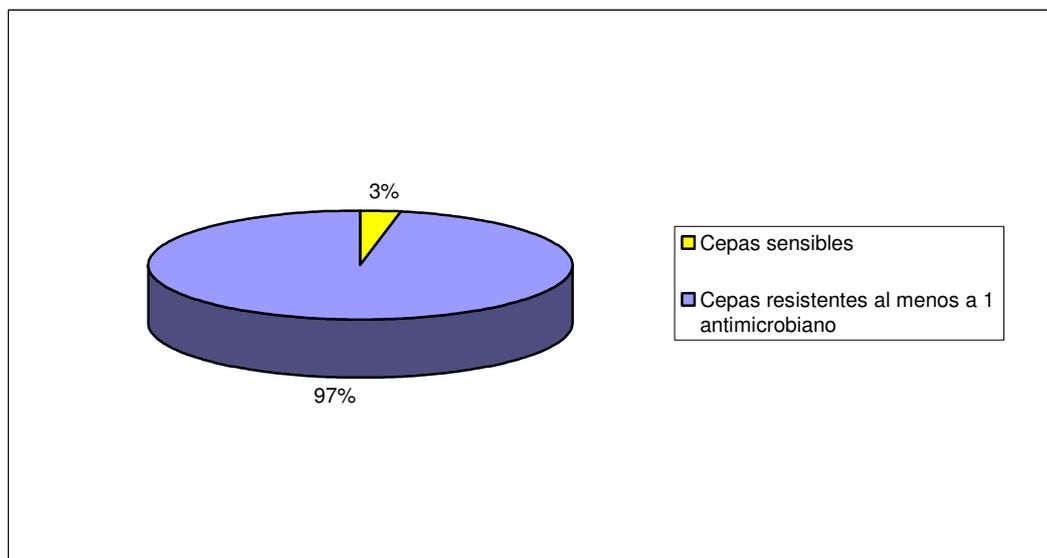
**Cuadro 2:** Total de cerdos analizados positivos a *Salmonella* spp. según plantel.

Plantel	Total de cerdos	N° de cerdos positivos	Porcentaje de cerdos positivos
<b>A</b>	55	13	23,6
<b>B</b>	58	7	12,1
<b>C</b>	59	5	8,5
<b>D</b>	59	27	45,8
<b>E</b>	59	15	25,4
<b>Total</b>	290	67	23,1

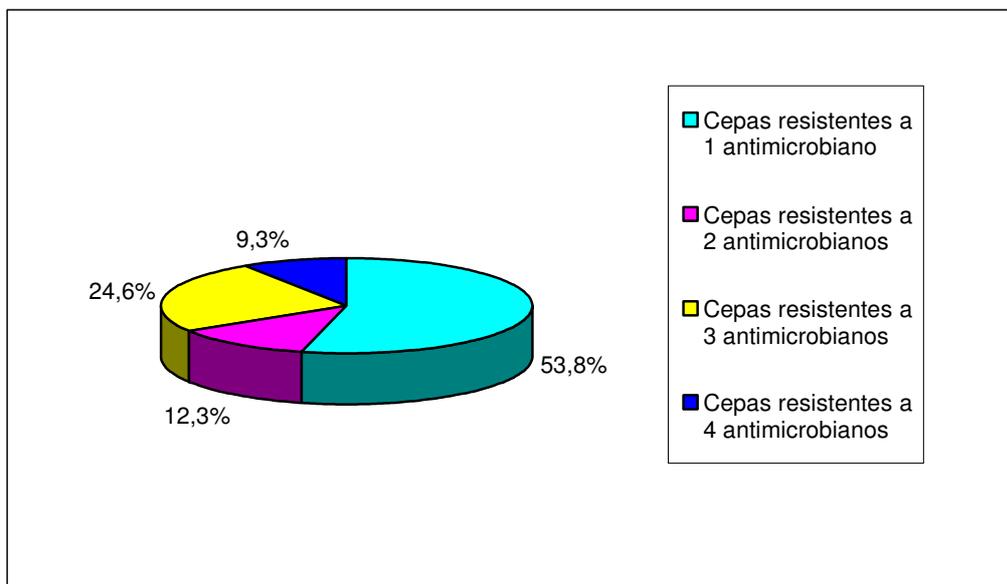
**Gráfico 1:** Porcentaje de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de 67 cerdos faenados en la Región Metropolitana, según tipo de muestra.



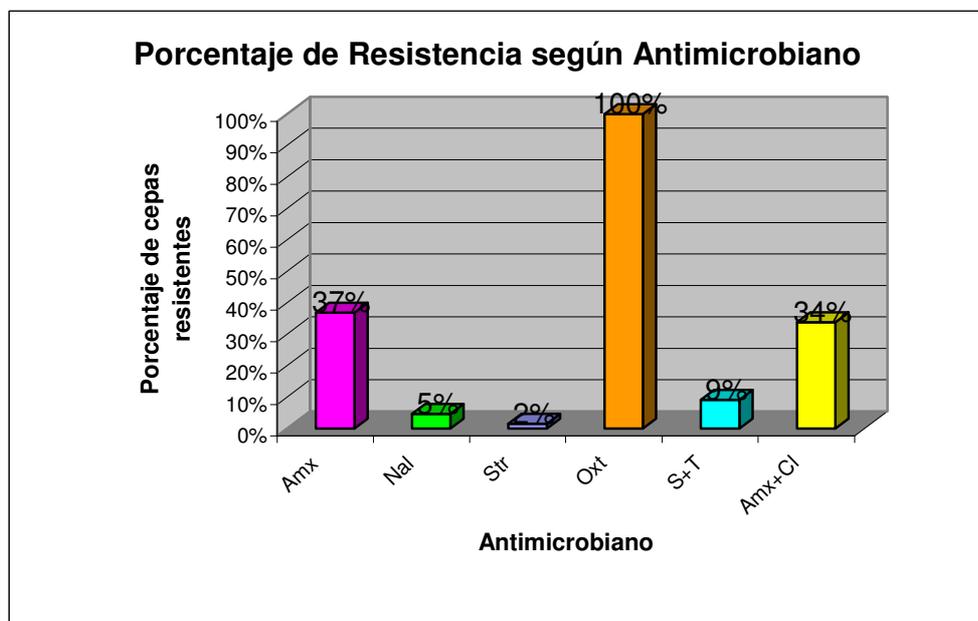
**Gráfico 2:** Susceptibilidad antimicrobiana de 67 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de cerdos faenados en la Región Metropolitana.



**Gráfico 3:** Porcentaje de cepas de *Salmonella* spp. resistentes aisladas desde cerdos, según número de antimicrobiano.



**Gráfico 4:** Porcentaje de resistencia en 65 cepas de *Salmonella* spp. de origen porcino, según antimicrobiano.



**Amx:** Amoxicilina; **Nal:** Ácido Nalidíxico; **Str:** Estreptomicina; **Oxt:** Oxitetraciclina; **S+T:** Sulfa + Trimetoprim; **Amx+Cl:** Amoxicilina + Ácido Clavulánico.

**Cuadro 3:** Perfiles de resistencia de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de 65 cerdos faenados en la Región Metropolitana.

Perfiles	N° Cepas resistentes	%
<b>Oxt</b>	35	53,8
<b>Amx/Oxt/Amx+Cl</b>	16	24,6
<b>Amx/Oxt/S+T/Amx+Cl</b>	6	9,3
<b>Nal/Oxt</b>	4	6,2
<b>Amx/Oxt</b>	2	3,1
<b>Oxt/S+T</b>	1	1,5
<b>Str/Oxt</b>	1	1,5
<b>Total</b>	65	100

**Amx:** Amoxicilina; **Amx+Cl:** Amoxicilina + Ácido Clavulánico; **Oxt:** Oxitetraciclina; **Nal:** Ácido Nalidíxico; **S+T:** Sulfa + Trimetoprim; **Str:** Estreptomina

## DISCUSIÓN

La inocuidad de los alimentos se ha transformado en un importante tema de discusión a nivel mundial, donde aunar criterios respecto a los peligros que se deben controlar, evaluar los riesgos a los que está expuesta la población, al mismo tiempo conciliar criterios económicos con exigencias de bioseguridad, no son temas fáciles de abordar. Sin embargo, en un mundo cada vez más integrado y con menos barreras comerciales, gracias a los tratados de libre comercio, surgen estas barreras sanitarias como limitantes (Rivera, 2006). Dentro de estas barreras destaca *Salmonella* spp. como un patógeno zoonótico difícil de erradicar y por lo tanto, su control debería considerar los distintos eslabones de la cadena de producción.

Previamente, a nivel nacional, se habían realizado algunos trabajos que relacionaron a los cerdos con la epidemiología de la salmonelosis. En el año 1965, un estudio realizado en 500 cerdos faenados en Santiago, señaló haber aislado esta bacteria desde linfonódulos mesentéricos, en un 11% de los cerdos en estudio. En estas cepas aisladas, los serotipos predominantes fueron *S. Typhimurium*, *S. Reading*, *S. Newington* y *S. Stanley* (Pinto, 1965). Posteriormente, en el año 1980, se aisló salmonela desde muestras de músculo, linfonódulos e hígado provenientes de 50 cerdos faenados en la provincia de Valdivia, de los cuales 12 (24%) presentaron la bacteria en alguna de las muestras. Todas las cepas obtenidas correspondieron a *Salmonella Typhimurium* (Montes *et al.*, 1980). Más recientemente, Bravo (2004) a partir de 1200 muestras de heces porcinas, obtenidas al momento del beneficio, logró aislar 60 (5%) cepas de *Salmonella* spp. Datos de la prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos a nivel nacional, sólo existe la determinada por el SAG, medida en las canales porcinas en plantas faenadoras durante el año 2005, donde el valor fue de un 7%; en otras especies como bovinos, pollos broilers y pavos fueron de 0,5%, 1,3% y 7,2% respectivamente. Estos antecedentes guardan relación con numerosas investigaciones en diferentes países, en los que la especie porcina es uno de los animales de abasto donde más frecuentemente es posible aislar a este patógeno. Esto queda demostrado en diferentes estudios internacionales, como el realizado por Davies *et al.* (2004), quienes estimaron la prevalencia de salmonela en bovinos, ovinos, cerdos y las canales de estos

últimos, en plantas de faenamiento de Gran Bretaña. Las prevalencias obtenidas en cerdos (23%) y sus canales (5,3%), fueron ampliamente superiores a las obtenidas en bovinos (0,2%) y ovinos (0,1%), demostrando que el cerdo es uno de los principales portadores de salmonela en ese país. Estos resultados fueron similares a los de un estudio realizado por Padungtod y Kaneene (2006), en Tailandia, donde la prevalencia a nivel de plantas faenadoras de cerdos fue 28%.

Las investigaciones sobre salmonelosis en medicina humana han reforzado la participación de la especie porcina en la epidemiología de esta enfermedad. Murase *et al.* (2000), estudiaron un brote de salmonelosis ocurrido en Japón, donde más de cien personas se vieron afectadas. La investigación determinó que el patógeno involucrado era *Salmonella* Typhimurium, el cual fue aislado en carne de cerdo insuficientemente cocida (“roast pork”) que había sido consumida por los pacientes. Por otro lado, Zaidi *et al.* (2006), en Yucatán, México, encontraron que en la carne de cerdo, salmonela fue aislada en mayor proporción que en la carne de vacuno y pollo, además, las cepas encontradas estaban relacionadas genéticamente con las aisladas en personas. Este hecho sugiere fuertemente que la posibilidad de transmisión entre estos animales y las personas es altamente probable. Todos estos antecedentes indicarían que el cerdo juega un rol significativo en la epidemiología de la zoonosis causada por *Salmonella* spp.

Chile es uno de los países a nivel mundial con mejores condiciones zosanitarias para la producción y exportación alimentos de origen animal. Este estatus se ha logrado gracias al trabajo del Servicio Agrícola y Ganadero, que es el organismo oficial encargado de la sanidad animal. El programa de Planteles Animales Bajo Certificación Oficial porcino, es un instrumento de certificación predial, otorgado por el SAG, que permite proporcionar garantías a los servicios oficiales de los países de destino de las exportaciones porcinas (SAG, 2007). Dentro de los requisitos de este programa, se establecen enfermedades de control obligatorio, dentro de las que no está *Salmonella* spp., sin embargo, hay exigencias en cuanto a bioseguridad que debieran redundar en menores niveles de este patógeno a nivel predial. Dentro de las exigencias está el contar con filtros sanitarios (pediluvio, rodiluvio, lavamanos, etc.), restringir el movimiento de animales entre planteles, control del

ingreso de personas, contar con los servicios de un Médico Veterinario, documentar y justificar las normas de bioseguridad aplicadas, controlar las plagas, entre otros (SAG, 2005b). Es debido a este estatus de bioseguridad “superior”, que este estudio escogió 5 planteles PABCO, para determinar la presencia de *Salmonella* spp. en sus cerdos. De acuerdo a los resultados obtenidos, los 5 planteles fueron positivos, lo que indicaría que las medidas de bioseguridad que poseen estos planteles, no son suficientes para evitar que esta bacteria convierta en portadores a los cerdos. Es por ésto, que sería de mucha utilidad que dentro de las exigencia necesarias para obtener la certificación PABCO, exista un plan de acción frente a *Salmonella* spp. De este modo se podría integrar su control a través de la cadena de producción, como ocurre en Dinamarca, en donde uno de los pilares del programa de control de salmonela, es el control de los planteles porcinos. Estos planteles son monitoreados constantemente para medir los niveles de infección de salmonela, a partir de los cuales, son categorizados en tres niveles. Así, los planteles con bajos niveles de infección, faenan sus cerdos en plantas tradicionales, recibiendo además incentivos económicos, en cambio, los con mayores niveles de infección, deben faenar sus cerdos en plantas especiales bajo estrictas medidas higiénicas (Wegener *et al.*, 2003). Si bien, los datos obtenidos en esta investigación no pueden ser extrapolados, cabe pensar que planteles no PABCO, con estándares de bioseguridad menores, pueden albergar niveles de infección insospechada.

Otro de los objetivos de este estudio fue comparar la frecuencia de aislamiento en relación al tipo de muestra analizada. De acuerdo a los resultados obtenidos (35% heces, 28% linfonódulos mesentéricos y 37% en ambos tipos de muestras), se puede señalar que para detectar salmonela en cerdos portadores asintomáticos, no existe diferencia estadística entre procesar heces y linfonódulos mesentéricos. Sin embargo, debido a que el índice Kappa arrojó una concordancia moderada, se debería realizar el aislamiento en ambas muestras, de tal modo de no subestimar la proporción de animales portadores de *Salmonella* spp. Esto parece de vital importancia, toda vez que es una bacteria de gran impacto en salud pública y en la industria de alimentos.

Es un hecho que *Salmonella* spp. puede alojarse en diferentes tejidos, debido a ésto, el tipo de muestra analizada en un individuo, puede generar diferencias en la detección de animales portadores asintomáticos. La mayoría de los trabajos internacionales consideran más de una muestra por individuo, dentro de las más usadas están las heces, linfonódulos e hisopados de la superficie de la canal (Hurd *et al.*, 2002; Rostagno *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2005; Padungtod y Kaneene, 2006). Vieira-Pinto *et al.*, (2005) realizaron un estudio, en donde encontraron a este patógeno no sólo en el contenido intestinal y los linfonódulos ileocólicos, sino que también en otros tejidos como ileon, tonsilas, linfonódulos mandibulares y en la superficie de la canal porcina. Los resultados mostraron que del total de muestras (505), 69 resultaron positivas a *Salmonella* spp., provenientes de 32 cerdos. De estos animales positivos, 4 presentaron la bacteria sólo en la canal, 9 en la canal y órganos internos y, 19 solamente en los órganos internos. Se observó además, que los 28 cerdos positivos a *Salmonella* spp. en los órganos internos, eran portadores asintomáticos y que un 57,1% de ellos tenía más de un órgano positivo. Al comparar el porcentaje de aislamientos según órgano, se observó que los linfonódulos ileocólicos fueron los que presentaron mayor proporción de *Salmonella* spp. con un 18,8%, v/s un 13,9% del ileon, 12,9% en los linfonódulos mandibulares y 9,9% en las tonsilas. Estos resultados sugieren que la variabilidad en las prevalencias observadas a nivel mundial (0,8 a 25%) puede deberse, entre otras causas al tipo de muestra analizada.

Si bien, el tipo de muestra elegida depende de si ésta se obtendrá antemortem o postmortem, se debe tener en cuenta que la eliminación de salmonela a través de las deposiciones es intermitente, especialmente cuando los cerdos no presentan signos clínicos (Malorny y Hoorfar, 2005). Debido a esta situación, los linfonódulos mesentéricos son una excelente alternativa cuando se realizan muestreos postmortem, ya que salmonela es un patógeno intracelular facultativo de los macrófagos, los cuales transportan la bacteria hacia estos linfonódulos, permitiendo que los cerdos permanezcan como portadores aún cuando ya no eliminan la bacteria por sus heces (Ohl y Miller, 2001).

En esta investigación, los medios de enriquecimiento y cultivo fueron escogidos en función de los buenos resultados reportados en diversos trabajos y a que éstos, han sido probados con éxito en el laboratorio de microbiología donde se realizó la experiencia. En el enriquecimiento se utilizó caldo Tetrionato, medio de enriquecimiento selectivo que ha mostrado buenos resultados en trabajos comparativos, como los de Harvey *et al.* (2001) y Osumi *et al.* (2003), quienes aislaron un mayor número de cepas de salmonela en porcinos con caldo Tetrionato que, con GN Hanja o Rappaport Vassiliadis, sin embargo el Tetrionato puede ser tóxico para *S. Choleraesuis* (Osumi *et al.*, 2003). Además, en términos prácticos, la utilización de este medio de enriquecimiento fue menos engorroso, debido a que por gramo de muestra el volumen necesario es mucho menor (1:10) que el de Rappaport Vassiliadis (1:100). En relación al medio de cultivo sólido, el agar XLD es uno de los más utilizados por los laboratorios, ya que posee características que lo hacen ser selectivo para salmonela, siendo sus colonias fáciles de distinguir (centro negro debido a la generación de Ácido Sulhídrico).

En cuanto a la temperatura de enriquecimiento e incubación, experiencias previas en el laboratorio, como la de Bravo (2004), indicaban que a 37°C, muestras polimicrobianas, como las de heces, presentaban desarrollo de muchos microorganismos que son parte de la flora normal intestinal (Waltman, 2000). Es por este motivo, que en este trabajo, se decidió aumentar la temperatura a 42°C, que actuó como factor selectivo, ya que inhibió el crecimiento de gran parte de los microorganismos, obteniéndose placas con escaso o nulo crecimiento de colonias, excepto las placas que resultaron positivas a salmonela, en donde las colonias crecieron en abundancia. Esto concuerda con trabajos como los de Davies *et al.* (2000) y Osumi *et al.* (2003), que han obtenido mejores resultados con esta temperatura en el enriquecimiento.

La metodología de aislamiento de *Salmonella* spp. y los serotipos presentes en las muestras, son determinantes en la eficiencia de las pruebas diagnósticas, no existiendo un único protocolo que permita aislarla en el 100% de las muestras positivas (Murray y Barton 1993). Además, se debe tener en cuenta que el cultivo bacteriano, como método de detección de animales portadores de *Salmonella* spp., a pesar de ser el más utilizado tiene

algunas limitaciones, como su sensibilidad, ya que sólo detecta muestras con  $1 \times 10^3$  UFC/gr o más (Borie, 2008)<sup>1</sup>. De este modo, la falta de una técnica estandarizada, dificulta la comparación entre resultados.

Entonces, considerando que no existe una metodología que sea 100% eficaz, las expectativas al inicio de esta investigación, no esperaban encontrar un 23,1% de cerdos positivos a *Salmonella* spp., que si bien, no corresponde a una estimación de prevalencia, llama la atención por el alto nivel de infección, nivel que además, fue ampliamente superior al observado previamente a nivel nacional.

Se ha observado a nivel internacional, que las prevalencias pueden variar de acuerdo al eslabón de la cadena de producción donde se estime. De esta forma, el hecho que los cerdos sean portadores de esta bacteria, no implica, necesariamente, que todas sus canales estén contaminadas, ya que si se realiza un adecuado procedimiento de eviscerado, se minimiza este riesgo, sin embargo, el peligro no desaparece. Un estudio realizado por Berends *et al.* (1997), concluye que aunque, en el momento del beneficio, se lleven a cabo todas las buenas prácticas de higiene, si los animales son portadores de salmonela, siempre habrá transmisión de la bacteria a los consumidores. En otras palabras, sólo se podría producir carne de cerdo libre de salmonela, si ninguno de ellos fuera positivo al momento del beneficio. Por otro lado, aunque se lograra producir carne libre de salmonela a partir de cerdos portadores, existe un grupo de personas, que de todas maneras se podría ver afectado, que son los trabajadores de la sala de tripería de las plantas faenadoras. Estas personas, son las encargadas de extraer las heces desde los intestinos, por lo tanto están en estrecho contacto con estas deposiciones que, como lo demuestra este y otros estudios, están altamente contaminadas con esta bacteria. En este sentido, la prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos (7%), estimada por el SAG (2005a) a partir de canales, no necesariamente se relaciona con la prevalencia a nivel de rebaño, pudiendo ser esta última

---

<sup>1</sup> **Borie, C.** 2008. [Comunicación personal]. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

aún mayor. Davies *et al.* (2004) en Gran Bretaña, determinó que la prevalencia a nivel de canales de cerdos fue de 5,3%, versus 23% a nivel de heces.

De acuerdo a los antecedentes discutidos, es posible concluir que son múltiples los factores que pueden influir en la determinación de la prevalencia de *Salmonella* spp. De esta forma, el tipo de muestra escogida, la metodología de aislamiento, el eslabón de la cadena de producción donde es medida, entre otros, pueden determinar variaciones en los valores.

Dinamarca es uno de los países que más investigaciones ha realizado en el tema y ha comprendido que para llevar a cabo un control efectivo sobre este enteropatógeno, es necesario partir por reducir su prevalencia en los planteles porcinos, junto con educar a los consumidores en temas de manipulación de los alimentos y no sólo enfocarse en evitar la contaminación de las canales al momento del beneficio (Wegener *et al.*, 2003), como ocurre en Chile, que ha centrado sus esfuerzos en evitar la contaminación a nivel de planta faenadora lo que, según el estudio de Figueroa (2007), no ha redundado en una disminución de los niveles de salmonela en la carne. Por este motivo, es necesario seguir investigando el comportamiento de esta bacteria en la cadena de producción, para de esta forma, contar con evidencia científica que permita elaborar un plan de control eficaz.

En cuanto a los resultados de susceptibilidad antimicrobiana, las cepas de *Salmonella* spp. analizadas presentaron altos niveles de resistencia y multiresistencia, ya que el 97% de ellas fue resistente al menos a un antimicrobiano. A nivel nacional, dentro de los escasos estudios de susceptibilidad antimicrobiana realizados en cepas de salmonelas porcinas, se encuentra el de Bravo (2004), quien obtuvo un 83,4% de cepas resistentes al menos a un antimicrobiano. A pesar que ambos trabajos analizaron parcialmente las mismas drogas, se puede observar que el fenómeno de resistencia se presenta elevada en ambos y que coinciden en algunos resultados, como en los altos porcentajes de resistencia frente a Oxitetraciclina. No obstante, también se aprecian algunas diferencias, ya que en este estudio se encontraron cepas resistentes frente a Amoxicilina, Amoxicilina + Ácido Clavulánico y Sulfa + Trimetoprim, situación no observada por Bravo (2004). Estos altos niveles de resistencia han sido determinados a nivel internacional hace años y también se

han observado en salmonelas de otras especies animales, como las de aves (Bravo, 2004; Esaki *et al.*, 2004; Padungtod y Kaneene, 2005). Al respecto, San Martín *et al.* (2005), estudiaron 60 cepas aisladas de origen aviar, demostrando a nivel molecular la presencia de 39 cepas resistentes a ciertas quinolonas y fluoroquinolonas, excepto frente a Enrofloxacino y Ciprofloxacino, drogas ampliamente usadas en medicina veterinaria y humana respectivamente.

En relación a los resultados obtenidos en este trabajo, se observó resistencia frente a Ácido Nalidíxico (6,2%), quinolona ampliamente utilizada en producción animal, sin embargo, no se detectó resistencia frente a Enrofloxacino que fue la única fluoroquinolona analizada. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Bravo (2004). No obstante, de acuerdo al informe anual sobre vigilancia de resistencia de la OPS (2004), un 11% de cepas de salmonelas chilenas, aisladas desde animales, fueron resistentes a Enrofloxacino. La emergencia de resistencia frente a este tipo de antimicrobiano se traduce en un mayor riesgo para la salud pública, debido a que la resistencia frente a Ciprofloxacino (de elección frente a diferentes patologías en los seres humanos) presenta resistencia cruzada con la de Enrofloxacino.

A nivel internacional, existen países donde los niveles de resistencia frente a quinolonas en cepas asociadas a la carne porcina son elevados, generando un grave problema en medicina humana, ya que reduce las alternativas de tratamiento. En Taiwan, Chang *et al.* (2005), encontraron altos niveles de resistencia a quinolonas en cepas provenientes desde cerdos, 19% a Ciprofloxacino, Enrofloxacino y Norfloxacino y, 100% a Ácido Nalidíxico. Estos datos, sumado al hecho que también se aislaron cepas de salmonelas provenientes de personas, altamente resistentes a estas quinolonas, sugieren que podría haber transmisión desde los cerdos a las personas.

Dentro de los antimicrobianos, llama la atención el alto nivel de resistencia a Oxitetraciclina, ya que del total de cepas resistentes (65), el 100% fue resistente a este antimicrobiano. Estos datos concuerdan con otras investigaciones que también han encontrado cepas de salmonelas altamente resistentes a Tetraciclina, como los de Davies *et*

al. (2004), en donde esta droga fue la que presentó niveles de resistencia tan elevados como 75,6%. Estos resultados se podrían explicar debido que la Tetraciclina ha sido uno de los antimicrobianos más utilizados en producción porcina (McEwen y Fedorka-Cray, 2002).

A pesar de los elevados niveles de resistencia obtenidos en esta investigación, la totalidad de las cepas analizadas fueron sensibles a Cefotaxima, Gentamicina y Enrofloxacino, lo que concuerda con los resultados de Bravo (2004). No obstante, en el estudio de Bravo (2004), todas las cepas analizadas fueron sensibles a Amoxicilina, Amoxicilina+Ácido Clavulánico y Sulfametoxazol+Trimetoprim, lo que difiere con los resultados obtenidos en este estudio, en donde se encontraron cepas resistentes a estos antimicrobianos. Esta diferencia en los resultados, podría deberse a un aumento en los niveles de resistencia, lo que sugiere, que éstos debería estar en constante monitoreo. En relación a los perfiles de resistencia, el más común fue el de Oxitetraciclina (53,8%), seguido por Amoxicilina/ Oxitetraciclina/ Amoxicilina + Ác.Clavulánico (24,6%). Estos resultados difieren con los obtenidos por Bravo (2004), en donde el perfil más común fue Estreptomina/Tetraciclina (40,3%), en cambio en este estudio fue el perfil menos frecuente (1,5%).

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio demuestran la presencia de *Salmonella* spp. en cinco planteles PABCO, cuyas cepas presentaron niveles de resistencia preocupantes. Esta situación, plantea la necesidad de contar con un sistema de vigilancia nacional, que monitoree constantemente, a lo largo de toda la cadena de producción, los niveles de infección por *Salmonella* spp. y la emergencia de resistencia, permitiendo adoptar las medidas necesarias, para salvaguardar la salud de las personas y los animales. En este sentido, el rol del Médico Veterinario es fundamental, ya que está en estrecho contacto con las especies animales productivas, jugando un papel importante en la mantención del estatus zoonosario a nivel nacional.

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir que:

- *Salmonella* spp. está presente en los cinco planteles porcinos con certificación PABCO analizados.
- El porcentaje de aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de linfonódulos mesentéricos es semejante que el aislamiento a partir de heces de cerdos.
- Para aumentar la frecuencia de aislamiento de *Salmonella* spp. en cerdos debieran considerarse muestras de heces y linfonódulos mesentéricos.
- Un porcentaje elevado de cepas de *Salmonella* spp. de origen porcino fue resistente al menos a uno de los antimicrobianos analizados, destacando un elevado nivel de multiresistencia.
- Los perfiles de resistencia antimicrobiana más frecuentes fueron a Oxitetracilina y la combinación Amoxicilina/Oxitetracilina/Amoxicilina+Ácido Clavulánico.

## BIBLIOGRAFÍA

- **AARESTRUP, F.; SEYFARTH, A.; EMBORG, H.; PEDERSEN, K.; HENDRIKSEN, R.; BAGER, F.** 2001. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45:2054-2059.
  
- **BAGER, F.; HELMUTH, R.** 2001. Epidemiology of resistance to quinolones in *Salmonella*. *Veterinary Research* 32:285-290.
  
- **BERENDS, B.; VAN KNAPEN, F.; SNIJDERS, J.; MOSSEL, D.** 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. (Abstract). *International Journal of Food Microbiology* 36:199-206.
  
- **BRAVO, V.** 2004. Utilización de *Salmonella* spp. en el monitoreo de la resistencia bacteriana en cerdos y aves. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias 52 p.
  
- **CANNON, R.; ROE, R.** 1982. Livestock disease surveys: A Field Manual for Veterinarians. Australian Government Publishing Service, Canberra. **In:** Thrusfield, M. 1990. Epidemiología Veterinaria. Acribia. Zaragoza, España. 198 p.
  
- **CARLIER, V.; ROZIER, J.; BOLNOT.** 1985. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Sepale. Paris, Francia 230 p.
  
- **CDC.; NIH (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION.; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH).** 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. [En línea]. <<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>> [Consulta: 01-02-2008].

- **CHANG, C.; LIN , Y.; CHANG, C.; YEH, K.; CHIU, C.; CHU C.; CHIEN, M.; HSU, Y.; TSAI, L.; CHIOU, C.** 2005. Epidemiology relationship between fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* serovar Cholerasuis strains isolated from humans and pings in Taiwan (1997-2002). *Journal of Clinical Microbiology* 43:2798-2804.
  
- **DAVIES, P.; TURKSON, P.; FUNK, J.; NICHOLS, M.; LADELY, S.; FEDORKA-CRAY, P.** 2000. Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. *Journal of Applied Microbiology* 89:169-177.
  
- **DAVIES, R.; DALZIEL, R.; GIBBENS, J.; WILESMITH, J.; RYAN, J.; EVANS, S.; BYRNE, C.; PAIBA, G.; PASCOE, S.; TEALE, C.** 2004. National survey for *Salmonella* in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999-2000). *Journal of Applied Microbiology* 96:750-760.
  
- **DELPECH, V.; McANULTY, J.; MORGAN, K.** 1998. A salmonellosis outbreak linked to internally contaminated pork meat. (Abstract). *Australian and New Zealand Journal of Public Health* 22:243-246.
  
- **EFSA (THE EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY).** 2004. Opinion of the scientific panel on biological hazards on a request from the commission related to the use of antimicrobials for the control of *Salmonella* in poultry. *The EFSA Journal* 115:1-76.
  
- **ESAKI, H.; MORIOKA, A.; ISHIHARA, K.; KOJIMA, A.; SHIROKI, S.; TAMURA, Y.; TAKAHASHI, T.** 2004. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53:266-270.

- **FARZAN, A.; FRIENDSHIP R.; DEWEY C.; WARRINER K.; POPPE C.; KLOTINS K.** 2006. Prevalence of *Salmonella* spp. on canadian pig farm using liquid or dry-feeding. Preventive Veterinary Medicine 73:241-254.
  
- **FICA, A.; FERNÁNDEZ, A.; PRAT, S.; FIGUEROA, O.; GAMBOA, R.; TSUNEKAWA, I.; HEITMANN, I.** 1997. *Salmonella* Enteritidis, un patógeno emergente en Chile. Revista Médica de Chile 125:544-551.
  
- **FICA, A.; ALEXANDRE, M.; PRAT, S.; FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ, J.; HEITMANN, I.** 2001. Cambio epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. Revista Chilena de Infectología 18: 85-93.
  
- **FIGUEROA, J.** 2007. Descripción y análisis de las acciones realizadas por los servicios públicos (salud animal y salud pública), frente a salmonelosis humana. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias 98 p.
  
- **FORSHELL, L., WIERUP, M.** 2006. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. Revue Scientifique et Technique 25:541-554.
  
- **GOYACHE, J.; BRIONES, V.** 2002. Géneros *Salmonella* y *Shigella* . **In:** Vadillo, S.; Piriz, S.; Mateos, E. Manual de Microbiología Veterinaria. Interamericana Mc Graw-Hill. Madrid, España pp. 327-337.
  
- **HARVEY, R.; ANDERSON, R.; FARRINGTON, L.; DROLESKEY, R.; GENOVESE, K.; ZIPRIN, R.; NISBET, D.** 2001. Comparison of GN Hajna and tetrathionate as initial enrichment for salmonellae recovery from swine lymph nodes and cecal contents collected at slaughter. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 13:258-260.

- **HELMS, M.; VASTRUP, P.; GERNER-SMIDT, P.; MOLBAK, K.** 2002. Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella* Typhimurium. *Emerging Infectious Diseases* 8:490-495.
  
- **HELMS, M.; ETHELBERG, S.; MOLBAK, K.** 2005. International *Salmonella* Typhimurium DT 104 infections, 1992-2001. *Emerging Infectious Diseases* 11:859-867.
  
- **HUMPHREY, T.; JORGENSEN, F.** 2006. Pathogens on meat and infection in animals – establishing a relationship using *Campylobacter* and *Salmonella* as examples. *Meat Science* 74:89-97.
  
- **HURD, H.; McKEAN, J.; GRIFFITH, R.; WESLEY, I.; ROSTAGNO, M.** 2002. *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. *Applied and Environmental Microbiology* 68:2376-2381.
  
- **ICMSF.** 1980. Ecología microbiana de los alimentos 1. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. *Acribia*. Zaragoza, España. Vol. 1 pp. 99-117.
  
- **ISP (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE).** 2005. Enfermedades infecciosas, vigilancia de laboratorio y referencia. [En línea]. Vigilancia de resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. <[http://200.68.11.21/ivlweb/hvrsalspp\\_est.aspx](http://200.68.11.21/ivlweb/hvrsalspp_est.aspx)> [Consulta: 01-12-2007].
  
- **MALORNY, B.; HOORFAR, J.** 2005. Toward standardization of diagnostic PCR testing of fecal samples: lesson from the detection of *Salmonella* in pigs. *Journal of Clinical Microbiology* 43:3033-3037.

- **McEWEN, S.; FEDORKA-CRAY, P.** 2002. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases* 34:93-106.
  
- **MEAD, P.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L.; BREESE, J.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.; TAUXE, R.** 1999. Food-Related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease* 5:607-625.
  
- **MEZA, A.** 2006. Aspectos de bioseguridad en los Planteles Animales bajo Certificación Oficial, PABCO. **In:** SAG. 2006. Compartimentación y bioseguridad en la industria pecuaria de exportación. Actas del Seminario, 13 de julio de 2006. Santiago, Chile. Servicio Agrícola y Ganadero, SAG pp. 27-34.
  
- **MOLBAK, K.; BAGGESEN, D.; AARESTRUP, F.; EBBESEN, J.; ENGBERG, J.; FRYDENDAHL, K.; GERNER-SMIDT, P.; PETERSEN, A.; WEGENER, H.** 1999. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *The New England Journal of Medicine* 341:1420-1425.
  
- **MOLBAK, K.** 2005. Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. *Clinical Infectious Diseases* 41:1613-1620.
  
- **MOLLA, B.; BERHANU, A.; MUCKLE, A.; COLE, L.; WILKIE, E.; KLEER, J.; HILDEBRANDT, G.** 2006. Multidrug resistance and distribution of *Salmonella* serovars in slaughtered pigs. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 53:28-33.
  
- **MONTES, L.; SCHOEBITZ, R.; DUHALDE, J.** 1980. Detección de *Salmonella* en cerdos aparentemente sanos en un matadero industrial de la provincia de Valdivia. *Archivos de Medicina Veterinaria* 12:73-78.

- **MURASE, T.; YAMADA, M.; MUTO, T.; MATSUSHIMA, A.; YAMAI, S.** 2000. Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium following a food-borne outbreak. *Journal of Clinical Microbiology* 38:3495-3497.
  
- **MURRAY, C.; BARTON, M.** 1993. Salmonellosis bacteriology. **In:** Australian standard diagnostic techniques for animal diseases. L.A. Corner and T.J. Baugust (Eds). Australia pp. 3-8.
  
- **NCCLS (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD).** 2002. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals-second edition: approved standard M31-A2. NCCLS, Villanova, PA, USA 32 p.
  
- **OHL, M.; MILLER, S.** 2001. *Salmonella*: A model for bacterial pathogenesis. *Annual Review of Medicine* 52:259–274.
  
- **OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL).** 2004. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. [En línea]. Cap. 2.10.3. Salmonellosis. <[http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A\\_00129.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00129.htm)> [Consulta: 19-10-2007].
  
- **OLIVEIRA, C.; CARVALHO, L.; FERNÁNDEZ, S.; TAVECHIO, A.; DOMÍNGUEZ JR, F.** 2005. Prevalence of pigs infected by *Salmonella Typhimurium* at slaughter after an enterocolitis outbreak. *International Journal of Food Microbiology* 105:267-271.
  
- **OPS (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE SALUD).** 2005. Informe Anual Regional de los países participantes en la red de monitoreo/vigilancia de la resistencia a los antibióticos 2004. Brasilia, Brasil. 27-29 Julio, 2005 pp. 115.

- **OSUMI, T.; ASAI, T.; NAMIMATSU, T.; SATO, S.; YAMAMOTO, K.** 2003. Enrichment for isolating *Salmonella* Choleraesuis and other *Salmonella* spp. from pigs. The Journal of Veterinary Medical Science 65:949-951.
  
- **PADUNGTOD, P.; KANEENE, J.** 2006. *Salmonella* in food animals and humans in northern Thailand. International Journal of Food Microbiology 108:346-354.
  
- **PARRA, M.; DURANGO, J.; MATTAR, S.** 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. Mvz-Córdoba 7:87-200.
  
- **PHILLIPS, I.; CASEWELL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J.** 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 53:28-52.
  
- **PINTO, D.** 1965. Investigación de salmonellas en ganglios mesentéricos de cerdos aparentemente normales. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias 29 p.
  
- **PRADO, V.; SOLARI, V.; ALVAREZ I.; ARELLANO, C.; VIDAL, R.; CARREÑO, M.; MAMANI, M.; FUENTES, D.; O'RYAN, M.; MUÑOZ, V.** 2002. Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos en Santiago de Chile: Período 1999-2000. Revista Médica de Chile 130:495-501.
  
- **RIVERA, A.** 2006. Compartimentación: una herramienta sanitaria para el comercio internacional. **In:** SAG. 2006. Compartimentación y bioseguridad en la industria pecuaria de exportación. Actas del Seminario, 13 de julio de 2006. Santiago, Chile. Servicio Agrícola y Ganadero, SAG pp. 13-26.

- **ROSTAGNO, M.; HURD, H.; McKEAN, J.; ZIEMER, C.; GAILEY, J.; LEITE, R.** 2003. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. Applied and Environmental Microbiology 69:4489-4494.
  
- **SAG (SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO).** 2005a. Calidad de los alimentos e inocuidad. [En línea]. **In:** Chile, potencia agroalimentaria. Cuenta pública. <[http://www2.sag.gob.cl/cp2005/calidad/cerifica\\_pecuaria.htm](http://www2.sag.gob.cl/cp2005/calidad/cerifica_pecuaria.htm)> [Consulta: 10-09-2007].
  
- **SAG (SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO).** 2005b. Exigencias para el ingreso al programa de Planteles de Animales Porcinos Bajo Certificación Oficial. [En línea]. Instructivo técnico n°1. <[http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/page/pg\\_sag\\_biblioteca/pabco/biblioteca\\_pabco\\_manuales/instructivo\\_1\\_pabco\\_porcinos.pdf](http://www.sag.gob.cl/pls/portal/docs/page/pg_sag_biblioteca/pabco/biblioteca_pabco_manuales/instructivo_1_pabco_porcinos.pdf)> [Consulta: 12-09-2007].
  
- **SAG (SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO).** 2007. Programa de Planteles Animales Bajo Certificación Oficial, PABCO. [En línea]. <[http://www.sag.gob.cl/portal/page?\\_pageid=133,1713835&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL](http://www.sag.gob.cl/portal/page?_pageid=133,1713835&_dad=portal&_schema=PORTAL)> [Consulta: 12-09-2007].
  
- **SAN MARTIN, B.; LAPIERRE, L.; TORO, C.; BRAVO, V.; CORNEJO, J.; HORMAZABAL, J.; BORIE, C.** 2005. Isolation and molecular characterization of quinolone resistant *Salmonella* spp. from poultry farm. Veterinary Microbiology 110:239-244.
  
- **SKOV, M.; ANDERSEN, J.; AABO, S.; ETHELBERG, S.; AARESTRUP, F.; SORENSEN, A.; SORENSEN, G.; PEDERSEN, K.; NORDENTOFT, S.; OLSEN, K.; GERNER-SMIDT, P.; BAGGESEN, D.** 2007. Antimicrobial drug resistance of *Salmonella* isolates from meat and humans, Denmark. Emerging Infectious Diseases 13:638-641.

- **TINDALL, B.; GRIMONT, P.; GARRITY, G.; EUZEBY, J.** 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55:521-524.
  
- **VIEIRA-PINTO, M.; TEMUDO, P.; MARTINS, C.** 2005. Occurrence of *Salmonella* in the ileum, ileocolic lymph nodes, tonsils, mandibular lymph nodes and carcasses of pigs slaughtered for consumption. *Journal of Veterinary Medicine Series B* 52:476-481.
  
- **VOETSCH, A.; VAN GILDER, T.; ANGULO, F.; FARLEY, M.; SHALLOW, S.; MARCUS, R.; CIESLAK, P.; DENEEN, V.; TAUXE, R.** 2004. FoodNet Estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 38:127-134.
  
- **WALTMAN, W.** 2000. Methods for the Cultural Isolation of *Salmonella*. **In:** Wray, C.; Wray, A. (Eds). *Salmonella* in Domestic Animals. Cabi. Wallingford, England pp. 355-372.
  
- **WARWICK, C.; LAMBIRIS, A.; WESTWOOD, D.; STEEDMAN, C.** 2001. Reptile-related salmonellosis. *Journal of the Royal Society of Medicine* 94:124-126.
  
- **WEGENER, H.; HALD, T.; LO FO WONG, D.; MADSEN, M.; KORSGAARD, H.; BAGER, F.; GERNER-SMIDT, P.; MOLBAK, K.** 2003. *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerging Infectious Diseases* 9:774-780.
  
- **WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2007a. Food safety and foodborne illness. [En línea]. Fact sheet N°237 <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>> [Consulta: 28-10-2007].

- **WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION).** 2007b. *Salmonella*. [En línea]. <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/>> [Consulta: 28-10-2007].
  
- **ZAIDI, M.; McDERMOTT, P.; FEDORKA-CRAY, P.; LEON, V.; CANCHE, C.; HUBERT, S.; ABBOTT, J.; LEON, M.; ZHAO, S.; HEADRICK, M.; TOLLEFSON, L.** 2006. Nontyphoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatan, Mexico. *Clinical Infectious Diseases* 42:21-28.



