



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Salmonella*
enterica Y SU ASOCIACIÓN CON DISTINTOS HOSPEDEROS EN
CHILE**

Pilar Fernanda Lillo Lobos

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

PROFESOR GUÍA: PATRICIO RETAMAL MERINO
Universidad de Chile

PROYECTO FONDECYT 11110398

SANTIAGO, CHILE
2014



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *Salmonella enterica* Y SU ASOCIACIÓN CON DISTINTOS HOSPEDEROS EN CHILE

Pilar Fernanda Lillo Lobos

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

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESORA GUÍA : Patricio Retamal
PROFESOR CONSEJERO: Lissette Lapierre
PROFESOR CONSEJERO: Consuelo Borie

SANTIAGO, CHILE

2014

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis padres Hugo y Soledad, por entregarme su amor y apoyo incondicional, guiar mi camino universitario, por sus esfuerzos y confiar en mí. Gracias por ayudarme a cumplir mi sueño. Los admiro y amo demasiado. A mi hermana Arantza por hacerme tan feliz.

Quiero agradecer a mi familia, en especial a mis abuelos y a Jaqueline que me entregaron su enorme cariño y ánimo cuando más los necesitaba.

A mi Viche, por estar siempre junto a mí. Con tu amor y paciencia, me enseñaste a nunca perder la esperanza, incluso en los momentos más difíciles de la carrera. Te amo con todo mi corazón.

A Patricio Retamal, mi profesor guía, quien me permitió participar en este proyecto. Gracias por sus consejos y orientación. A las Profesoras consejeras Consuelo Borie y Lissette Lapierre, quienes siempre me ayudaron en todo lo que necesitaba. A todas las personas que trabajan en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, a mis compañeros de Laboratorio, a Don Patricio y a la Patricia por su preocupación y cariño.

Agradezco a mis amigos y futuros colegas, quienes me han acompañado en esta hermosa etapa de la vida. Por compartir grandes momentos, lleno de estudio, alegría, risas, apoyo y penas, por la hermosa relación que hemos construido a lo largo del tiempo.

Y a Dios por acompañarme en cada paso de mi vida.

“La vida será lo quieras tú quieras hacer de ella”

Daniela García

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

CAPÍTULO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
3. MATERIALES Y MÉTODO.....	9
4. RESULTADOS.....	13
5. DISCUSIÓN.....	20
6. CONCLUSIONES.....	27
7. BIBLIOGRAFÍA.....	28

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
Tabla 1. Interpretación de la zona de diámetro en patógenos de Medicina Veterinaria (CLSI, 2008).....	11
Tabla 2. Valores relativos de cepas resistentes a antimicrobianos en aves Acuáticas, aves comerciales y humanos.....	13
Tabla 3. Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de <i>Salmonella enterica</i> aisladas desde aves acuáticas.....	14
Tabla 4. Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de <i>Salmonella enterica</i> aisladas desde aves comerciales.....	16
Tabla 5. Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de <i>Salmonella enterica</i> aisladas desde humanos.....	17
Tabla 6. Antimicrobianos evaluados y su significancia (valor de p).....	19

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1. Valores absolutos de cepas resistentes a antimicrobianos según Hospederos.....	13

RESUMEN

La aparición de la resistencia antimicrobiana por parte de bacterias zoonóticas es una preocupación actual en la salud pública. *Salmonella enterica* es un patógeno emergente que ha cobrado mayor importancia en este último tiempo y se desconoce su impacto en especies acuáticas. El objetivo de este estudio fue determinar fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella enterica* y su asociación con distintos hospederos en Chile.

Se analizaron 111 cepas correspondientes 49 de aves acuáticas, 30 de aves comerciales y 32 humanas. Se utilizó el método de difusión en placa Kirby Bauer según las normas recomendadas por el Clinical Laboratory Standards Institute (2007) para determinar los fenotipos de resistencia. Los antibióticos utilizados fueron 10: enrofloxacino, amoxicilina - ácido clavulánico, cefotaxima, gentamicina, tetraciclina, sulfametazol - trimetoprim, ceftiofur, cefradina, ampicilina y cefradroxilo. Para analizar la asociación de los fenotipos de resistencia con su hospedero de origen se utilizó el programa Infostat versión 2010.

Del total de cepas de *S. enterica* analizadas se encontraron 42 cepas resistentes en aves acuáticas, 16 en aves comerciales y 10 en humanos. Dentro de las cepas de aves acuáticas 33 demostraron resistencia al antimicrobiano tetraciclina. En el caso de aves comerciales y humanos los valores absolutos de resistencia no fueron significativos.

En relación a la asociación de los fenotipos de resistencia con su hospedero de origen, se demostró en aves acuáticas en relación a 4 agentes antimicrobianos: Tetraciclina, amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina y gentamicina.

De acuerdo al estudio realizado, se demuestra el efecto del uso de antimicrobianos en la fauna silvestre como es el caso de las aves acuáticas y de qué manera se ve desfavorecido el medio ambiente con los altos niveles de

resistencia. Los resultados sugieren que las infecciones con *Salmonella* en aves acuáticas podría tener un gran impacto en la salud pública y animal.

Palabras claves: *Salmonella enterica*, resistencia antimicrobianos, aves acuáticas.

ABSTRACT

The emergence of antimicrobial resistance among zoonotic bacteria is a current public health concern. *Salmonella enterica* is an emerging pathogen that has recently gained importance and its impact on aquatic species is unknown. The aim of this study was to determine antibiotic resistance phenotypes in strains of *Salmonella enterica* and its association with various hosts in Chile.

In this study, 111 strains from 49 waterfowl, 30 from commercial birds and 32 from human samples were collected and analyzed. Kirby Bauer Disk diffusion method was used as recommended by the Clinical Laboratory Standards Institute (2007) to determine the phenotypes of resistance. The antibiotics used were 10: enrofloxacin, amoxicillin - clavulanic acid, cefotaxime, gentamicin, tetracycline, trimethoprim - sulfamethoxazole, ceftiofur, cefradine, ampicillin and cefradroxil. To analyze the association of resistance phenotypes with its host of origin, the Infostat 2010 version program was used.

Of the strains of *S. enterica* analyzed, 42 resistant strains were found in waterfowl, 16 and commercial birds and 10 in humans. Antimicrobial resistance to tetracycline was found in 33 strains from waterfowl, values from the commercial birds and humans groups were not significant.

Resistance phenotypes found in waterfowl demonstrated resistance to 4 antimicrobials: tetracycline, amoxicillin + clavulanic acid, ampicillin and gentamicin. According to this study, the effect of antimicrobial use on wildlife such as waterfowl is shown to be desfavourable due to high levels of resistance. These results suggest that *Salmonella* infection in waterfowl in Chile could be impacts on public an animal health.

Keywords: *Salmonella enterica*, antibiotic resistance, waterfowl.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un gran problema en la salud pública presentándose tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Su importancia radica en aspectos que van desde la pérdida de la inocuidad que posee un producto, hasta la enfermedad que adquieren las personas al consumir un alimento contaminado, conduciendo en ocasiones a la muerte.

Actualmente, se han descrito alrededor de 250 agentes causantes de ETA, entre los cuales se incluyen bacterias, virus, hongos, parásitos, priones, toxinas y metales. En relación a las toxiinfecciones de origen bacteriano, estas generan un gran impacto económico alterando 2 áreas: salud pública e inocuidad de los alimentos.

En Chile los brotes de ETA son de notificación obligatoria y en el año 2005 entró en vigencia el actual programa de vigilancia con el propósito de disponer de un sistema automatizado que permitiera el fácil acceso y uso para la notificación estos brotes.

Existen identificados más de 2500 serotipos de *Salmonella enterica*, dentro de los cuales un pequeño número están asociados con enfermedades en animales y humanos, entre ellos se incluyen: Typhimurium, Enteritidis, Newport, Heidelberg y Montevideo.

La aparición de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos agrava aún más esta situación y se ha convertido en un gran problema alrededor del mundo. Si bien gran parte de la resistencia observada en medicina humana se atribuye a distintos factores, entre algunos se mencionan: excesiva prescripción de medicamentos por médicos humanos, el gran consumo de antibióticos por parte de la población humana, y el uso inadecuado de antimicrobianos en animales, este último puede seleccionar patógenos resistentes que pueden ser transmitidos a través de los alimentos a las personas.

Este proyecto tiene como objetivo principal detectar resistencia a antibióticos de cepas de *S. enterica* y asociarlas a sus distintos hospederos en Chile.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Características del Agente

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, conformado por bacterias Gram negativas que se agrupan en 2 especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Actualmente se han identificado más de 2500 serotipos de *S. enterica* algunos de los cuales se han asociados con infecciones humanas (OIE, 2008).

Salmonella spp. coloniza un amplio rango de hospedadores y a la mayoría de las especies del ganado productivo como aves, bovinos y cerdos. Frecuentemente infecta especies productivas de manera asintomática, produciendo eventualmente la contaminación de carne y otros productos alimenticios, además de ser un foco constante de diseminación del patógeno en el plantel productivo (Newell *et al.*, 2010).

Infección en el ser humano

La mayoría de las infecciones se transmiten desde los animales portadores sanos a los seres humanos a través de alimentos contaminados. Las infecciones humanas con *S. Enteritidis* se originan principalmente por el consumo de huevos y productos derivados cuando son ingeridos de manera cruda o mal cocinada (Martelli & Davies, 2012).

Los huevos pueden ser infectados por *Salmonella* mediante la ruta vertical y horizontal. La transmisión vertical (transovárica) es la contaminación directa de la yema, albúmina, membrana de la cáscara o cáscara antes de la ovoposición, debido a la colonización de la bacteria en los órganos reproductivos. En cambio la transmisión horizontal se lleva a cabo mediante la penetración de la bacteria a través de la cáscara durante o después de la ovoposición (Messens *et al.*, 2005).

S. Enteritidis es el serotipo más frecuentemente asociado con la infección del huevo, lo que se debe a dos factores principales: en primer lugar debido a su capacidad única para colonizar el ovario y oviducto de las gallinas ponedoras, y en segundo lugar por su propagación y persistencia en la población de aves reproductoras en la mayor parte del mundo (Martelli & Davies, 2012).

En seres humanos las manifestaciones más comunes de infecciones por especies de *Salmonella* no tifoideas consisten en una leve a moderada gastroenteritis, con síntomas como diarrea, calambres abdominales, vómito y fiebre. El desarrollo de la enfermedad

varía entre las 6 a 72 horas después de la ingestión de la bacteria. Los síntomas son usualmente autolimitantes, resolviendo la enfermedad dentro de los 2 a 7 días siguientes (Moore *et al.*, 2011). En un pequeño porcentaje de casos puede ocurrir septicemia e infección invasiva de órganos y tejidos, conduciendo a una osteomielitis, neumonía y meningitis. La población más susceptible son los niños, ancianos y personas inmunocomprometidas las que requieren de terapia antimicrobiana (Foley & Lynne, 2008).

Patogenia de *Salmonella*

La ruta primaria de infección con *Salmonella* en animales es la transmisión fecal-oral. Por el contrario, en los seres humanos la principal vía de contaminación es el consumo de alimentos de origen animal cuando son consumidos de manera cruda o poco cocinada. Se estima que el número requerido de microorganismos necesarios para causar la enfermedad es bastante variable y se debe en parte, al contenido de comida contaminada con *Salmonella* y factores intrínsecos de los organismos infectados (Foley & Lynne, 2008).

Salmonella es capaz de sobrevivir a las condiciones antimicrobianas del estómago, incluyendo el bajo pH y la presencia de ácidos orgánicos (Bearson *et al.*, 2006). Una vez en el tejido intestinal *Salmonella* es fagocitada por células dendríticas y macrófagos y es transportada al tejido linfoide y los linfonodos mesentéricos. Los macrófagos son la célula blanco de la infección. A las pocas horas en el ambiente intracelular, la bacteria reside en un compartimento atípico ácido denominado Vacuola que contiene a *Salmonella* (SCV, del inglés "*Salmonella* containing-vacuole"), donde evade la actividad lítica de los lisosomas y es capaz de multiplicarse y sobrevivir dentro de los macrófagos difundiendo hacia el tejido intestinal desde donde en ocasiones desarrolla una infección sistémica (Cossart & Sansonetti, 2004).

Epidemiología

Las infecciones con *S. enterica* son una gran preocupación en la salud pública alrededor del mundo (Voetsch *et al.*, 2004). En el caso de Chile, en los últimos años ha existido un cambio epidemiológico desde *S. Typhi* a *S. Enteritidis*, siendo la última endémica en nuestro país, esto se debe principalmente a medidas de mejoramiento básicas como cobertura de agua potable, correcta disposición de excretas y aplicación de medidas

básicas de higiene que han logrado modificar sustancialmente la transmisión impidiendo la contaminación de los alimentos con aguas servidas (Fica *et al.*, 2001).

Olea *et al.* 2012, basados en un estudio realizado sobre la vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en Chile, indican que en nuestro país se desconoce la real magnitud de los brotes de ETA, dado que son pocas las personas que consultan a centros asistenciales por síntomas gastrointestinales. Por otra parte, sólo a una fracción de personas se les extraen muestras clínicas para determinar el agente causal. Sin embargo según su investigación, se determinó que durante los años 2009 y 2010 aumentó el porcentaje de brotes asociados a *S. Enteritidis*, al igual que en países europeos.

Por lo tanto, los dos cambios mayores en la epidemiología de la salmonelosis ocurrieron en la segunda mitad del siglo XX, por un lado relacionado con la emergencia de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos por *S. Enteritidis* y también por la múltiple resistencia a antibióticos presentes en cepas de *Salmonella* (Velge *et al.*, 2005)

Resistencia a los productos antimicrobianos

La resistencia bacteriana a los productos antimicrobianos representa un fenómeno natural resultado de la evolución. Su principal consecuencia se debe a que conduce a la falla terapéutica y se hace aún mayor cuando un microorganismo es multiresistente o cuando tiene la facultad de transmitir la resistencia a bacterias de especies distintas. El exceso de uso de antibióticos en la comida animal ha significado un gran impacto en la salud pública ya que ha permitido la selección de genes de resistencia a antibióticos en bacterias zoonóticas los cuales pueden ser transmitidos a los seres humanos (WHO, 2011).

Existen múltiples mecanismos de resistencia a antimicrobianos en las bacterias, dentro de los cuales se encuentran: disminución de la permeabilidad de la membrana externa o interna (a través de la expresión de proteínas de membrana llamadas porinas o presencia de bombas de eflujo), enzimas que inactivan a los antimicrobianos (hidrolizando o modificando su estructura), alteración de la molécula blanco o mediante vías metabólicas alternativas (Sefton, 2002; Davies & Davies, 2010).

El uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo selecciona patógenos resistentes y estos genes de resistencia pueden ser transferidos a las personas a través del consumo o la manipulación de los alimentos de origen animal. En la comida animal los

antimicrobianos son usados para el control y tratamiento de infecciones bacterianas y también como promotores del crecimiento. Sin embargo, una consecuencia no deseada es la selección de bacterias zoonóticas resistentes a los antimicrobianos y su posterior transmisión a través de la comida contaminada (White *et al.*, 2002)

Estudios recientes han demostrado que la adquisición de resistencia entre las bacterias transmitidas por los alimentos puede causar un mayor número de morbilidad en las personas, duración prolongada de la infección, aumento de las tasas de bacteremia, hospitalización y muerte (Tollefson & Karp, 2004).

Además, la resistencia a los antimicrobianos no sólo implica a bacterias patógenas, sino también a bacterias comensales que pueden actuar como un gran reservorio de genes de resistencia a los antimicrobianos. Esta resistencia puede transferirse a través de distintos elementos genéticos. Uno de ellos son los plásmidos, elementos extracromosómicos, no esenciales para la bacteria que a menudo portan genes que confieren ciertas características a las bacterias como son resistencia, virulencia, persistencia a condiciones extremas, etc. (Beceiro *et al.*, 2012).

Debido al fracaso terapéutico con antibióticos convencionales en el tratamiento de infecciones causadas por serotipos de *Salmonella* resistentes a múltiples fármacos es que las cefalosporinas de espectro extendido y las fluoroquinolonas se han convertido en los fármacos de elección en humanos. Las cefalosporinas son la droga de elección en niños ya que las fluoroquinolonas son tóxicas y están contraindicadas, en cambio las fluoroquinolonas se utilizan en adultos y personas inmunocomprometidas (Velge *et al.*, 2005).

La resistencia a las fluoroquinolonas es determinada por inhibición de la actividad de la DNA girasa, activación de bombas de eflujo y alteración en las proteínas de la membrana plasmática (Alós, 2009). En las cefalosporinas su resistencia se debe a la adquisición de plásmidos multiresistentes que codifican para un variado y extendido espectro de β lactamasas tipo Amp C (Miriagou *et al.*, 2004).

En un estudio realizado por Álvarez *et al.*, 2012 sobre la comparación de la prevalencia y resistencia antimicrobiana de serotipos de *Salmonella* aislados de aves comerciales en España, demostró que los porcentajes de resistencia aumentaron desde un 3,98% en

1996 a un 5% en 2006, donde los fármacos involucrados en esta resistencia fueron cefalotina, enrofloxacino y tetraciclina. En el caso de los humanos en un estudio realizado por Toro *et al.*, 2013 sobre la resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *S. enterica* en humanos, de los 114 aislados clínicos (2009-2010) se detectaron 18 serotipos distintos destacando entre ellos Typhimurium (61%) y Enteritidis (16%), observándose también altos porcentajes de resistencia a sulfamidas (68%), tetraciclinas (58%), ampicilina (55%) y estreptomycinina (46%).

Importancia de las aves acuáticas como agente diseminador de *Salmonella*

Las aves acuáticas, debido a su comportamiento migratorio son vectores de una amplia gama de microorganismos, dentro de los cuales se encuentran agentes zoonóticos que pueden ser transmitidos a los seres humanos (Tsiodras *et al.*, 2008). La salmonelosis califica como una enfermedad emergente ya que su prevalencia ha aumentado considerablemente en los últimos 40 años. En el caso de las gaviotas son relativamente resistentes a la enfermedad y pueden actuar como vectores eficaces de *Salmonella* y en consecuencia ser una importante fuente de infección para otros animales (Tizard, 2004).

Las gaviotas, principalmente del género *Larus*, comúnmente transportan *Salmonella*, adquiriéndola a partir de las actividades humanas. Lopez-Martín *et al.*, 2011 sugieren que la gaviota dominicana (*L. dominicanus*) es un ave centinela de algunos agentes biológicos en las zonas costeras de Chile, considerándola como un indicador ambiental tanto de las actividades humanas y animales.

La bacteria *Salmonella* puede estar presente en el medio silvestre a causa de dos razones. En primer lugar ya que puede ser adaptada por el hospedador y establecerse como parte de la flora intestinal. Y en segundo lugar debido a la presentación en las heces, resultando en una constante contaminación ambiental (Tizard, 2004). Así también la fauna silvestre, la fauna doméstica y los seres humanos han sido responsables de la contaminación de productos alimenticios como los vegetales, generando un gran impacto en la agricultura, lo cual se debe al agua utilizada para el riego que se encuentra contaminada con *Salmonella* a causa del material fecal (Hanning *et al.*, 2009).

Según un estudio realizado por Molina *et al.*, 2011 en relación a la presencia de *Salmonella* y susceptibilidad antimicrobiana en 121 aves rapaces del Centro de Rehabilitación Torreferrusa en Catalonia (España), de las cuales ninguna presentaba

tratamiento previo con antibióticos, determinó que el 10% de aves rapaces presentó *Salmonella*, 67% fueron resistentes al menos a un antimicrobiano y el 44% mostró resistencia a múltiples fármacos. Así también, en otro estudio para determinar resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella* realizado por Dolesjká *et al.*, 2009 en gaviotas de cabeza negra (*Larus Ridibundus*), determinó que en un 24% se encontró la presencia de *Salmonella* y un 28% resistencia a antibióticos. Finalmente en una investigación realizada por Se- Yeoun Cha *et al.*, 2013, en patos Pekin en Corea del Sur junto con identificar a *S. Enteritidis* (51,8%) como el serotipo más prevalente, concluyó que la resistencia a antibióticos aislada fue muy alta. Por lo tanto en Chile se requiere de estudios que evalúen las especies acuáticas como reservorios de *Salmonella* y conocer si estas son resistentes a los antibióticos, generando evidencias sobre los ciclos de transmisión de infecciones zoonóticas en los animales acuáticos y de qué manera repercuten en la vida humana, en los animales domésticos y en los propios animales silvestres.

HIPÓTESIS

En cepas de *S. enterica* existen diferencias asociadas a hospederos en los perfiles de resistencia a antibióticos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de *S. enterica* serovar Enteritidis aisladas desde aves acuáticas, aves comerciales y seres humanos en Chile.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Detectar fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de *S. Enteritidis*.
2. Identificar fenotipos de resistencia a antibióticos asociados a hospederos en cepas de *S. Enteritidis*.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras y Selección

Esta Memoria de Título se realizó en el marco del proyecto FONDECYT 11110398 “Diversidad genotípica y fenotípica de cepas de *Salmonella* Enteritidis aisladas desde aves acuáticas, aves comerciales y seres humanos en Chile”, en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, perteneciente al Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET) de la Universidad de Chile.

Muestras: Se utilizaron cepas de *S. enterica* aisladas desde aves acuáticas 49 (gaviota dominicana), aves comerciales 30 (reproductoras broiler) y seres humanos 32 existentes en el cepario de la Unidad de Enfermedades Infecciosas de FAVET, Universidad de Chile, con un total de 111 cepas analizadas.

Detección de fenotipos de resistencia a antibióticos

El ensayo se realizó mediante el método de difusión en placa Kirby- Bauer de acuerdo a las normas recomendadas por el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2007).

Antimicrobianos:

Los antimicrobianos (Oxoid®) evaluados ($\mu\text{g}/\text{disco}$) fueron los siguientes:

- Enrofloxacino ENR (10), Amoxicilina + Ácido Clavulánico AMC(30), Cefotaxima CTX (30), Gentamicina CN (10), Tetraciclina TE (30), Sulfametoxazol + trimetoprim STX (25), Ceftiofur EFT (30), Cefradina CE (30), Ampicilina AMP (10), Cefadroxilo CFR (30)

Cepa Control : *Escherichia coli* ATCC 25922

Estos antimicrobianos se eligieron en base a las recomendaciones señaladas por el CSLI 2007, CLSI 2008 y antimicrobianos registrados para aves en el Servicio Agrícola Ganadero.

Procedimiento

1. Preparación de las placas.

Se utilizó el agar Mueller – Hinton (OXOID), preparado de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el fabricante. Las placas poseían superficie uniforme y una profundidad de aproximadamente 4 mm.

2. Preparación de inóculos bacterianos

Las cepas en estudio se sembraron en 2 mL de caldo APT (AES Laboratorie) y se incubaron por 18 a 24 h a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Luego 100 μL de la suspensión bacteriana se inocularon en 5 mL de APT, se midió la concentración bacteriana en espectrofotómetro (OD_{600}) y se incubó en agitación a 37°C hasta alcanzar una OD_{600} de 0,25 ($1-5 \times 10^8$ UFC/mL).

3. Inoculación de placas y aplicación de sensidiscos

Cada suspensión bacteriana, fue sembrada uniformemente sobre la superficie de una placa de agar Mueller - Hinton usando una tórcula de algodón estéril. Una vez inoculadas, las placas se secaron en reposo por algunos minutos para luego colocar sensidiscos (Oxoid®) equidistantes entre sí sobre el agar, utilizando un equipo dispensador de sensidiscos (Oxoid®). Posteriormente las placas fueron incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h.

4. Lectura e Interpretación de Resultados:

La lectura se realizó midiendo con un piedemetro el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano proyectado desde el sensidisco, interpretándose como Sensible (S) o Resistente (R) usando como pauta los rangos establecidos por el CLSI (2008). Las mediciones del rango intermedio se consideraron resistentes en el estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Interpretación de la zona de diámetro en patógenos de Medicina Veterinaria (CLSI, 2008).

Antibiótico	Código	Zona de Diámetro Estándar (mm)			E. coli ATCC 25922
		Resistente	Intermedio	Susceptible	
Ampicilina	AMP-10	<13	14-16	>17	16-22
Amoxicilina – Ácido clavulánico	AMC-30	<13	14-17	>18	18-24
Cefotaxima	CTX-30	<14	15-22	≥23	29-35
Gentamicina	CN-10	<12	13-14	≥15	19-26
Tetraciclina	TE-30	<14	15-18	≥19	18-25
Sulfametazol-trimetoprim	STX-25	<10	11-15	≥16	23-29
Enrofloxacino	ENR-5	≤15	16-20	≥21	32-40
Cefadroxilo	CFR-30	≤14	15-17	≥18	21-27
Ceftiofur	EFT-30	≤14	15-22	≥23	26-31
Cefradina	CE-30	≤14	15-17	≥18	21-27

Análisis estadístico

Para el cumplimiento del objetivo específico 2, los resultados fueron analizados con el programa Infostat (v2010) en tablas de contingencia para análisis de datos categóricos, utilizando el estadístico de X^2 .

Bioseguridad

S. enterica es clasificada como un agente de riesgo intermedio de acuerdo al Manual de Estándar de Bioseguridad (2008) generado por CONICYT (2008), el cual sugiere medidas que corresponden al Nivel 2 de Bioseguridad. En este trabajo se considerará:

- Entrenamiento en la manipulación de muestras y procedimientos experimentales.
- Los procedimientos en que se manipulen bacterias vivas deberán ser realizados en cabina de bioseguridad clase IIA, o bien en el mesón alrededor de un mechero encendido.

- Las manos se desinfectarán con alcohol 70% antes y después de trabajar con los agentes bacterianos.
- Los guantes y delantal serán los principales elementos de protección individual a utilizar.

4. RESULTADOS

I. Detección de fenotipos de resistencia a antibióticos en cepas de S. Enteritidis

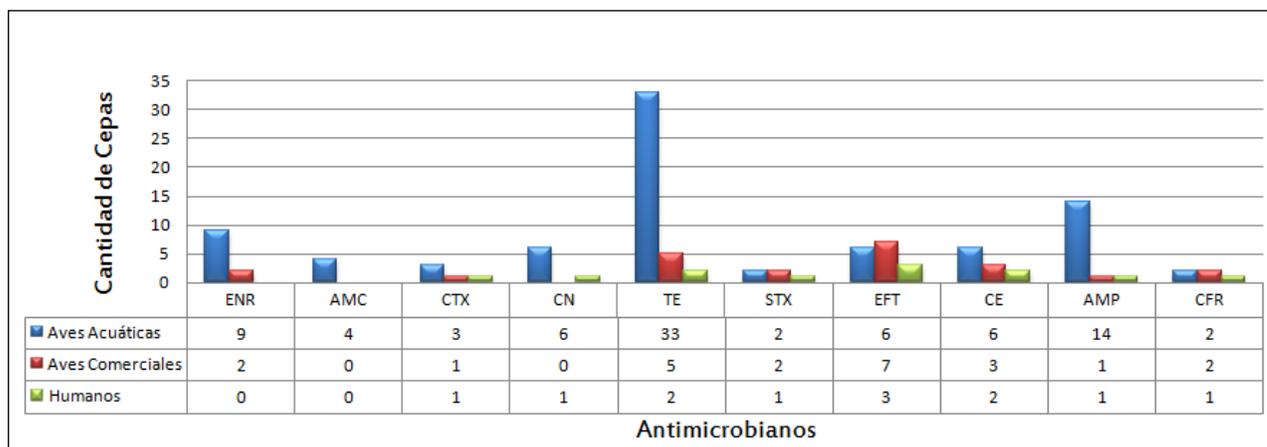
Del total de cepas analizadas se obtuvo un total de 43 cepas susceptibles (39%) y 68 cepas resistentes (61%) al menos a un agente antimicrobiano (Tabla 2 y Figura 1).

Tabla 2: Valores relativos de cepas resistentes a antimicrobianos en aves silvestres, aves comerciales y humanos.

ANTIMICROBIANOS										
Hospedero	ENR*	AMC*	CTX*	CN*	TE*	STX*	EFT*	CE*	AMP*	CFR*
Aves Acuáticas	18%	8%	6%	12%	67%	4%	12%	12%	29%	4%
Aves Comerciales	7%	0%	3%	0%	17%	7%	23%	10%	3%	7%
Humanos	0%	0%	3%	3%	6%	3%	9%	6%	3%	3%

*ENR Enrofloxacin, AMC Amoxicilina + Acido Clavulánico, CTX Cefotaxima, CN Gentamicina, TE Tetraciclina, STX Sulfametazol +Trimetoprim, EFT Ceftiofur, CE Cefradina, AMP Ampicilina, CFR Cefadroxilo.

Figura 1: Valores absolutos de cepas resistentes a antimicrobianos según hospederos.



Resistencia antimicrobiana en Aves Acuáticas

Para el estudio de aves acuáticas de un total de 49 cepas (100%), se encontraron 7 cepas (14%) susceptibles y 42 cepas resistentes (86%). Los fenotipos de resistencia antimicrobiana se demuestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde aves acuáticas.

ID *	Serotipo	Resistencia Antimicrobiana
SEN 17	S. Enteritidis (Grupo D)	Susceptible
SIN 1	S. Infantis	CFR
SE 19	Salmonella spp	TE, EFT
SEN 19	S. Enteritidis (Grupo D)	CTX, EFT
SIN 2	S. Infantis	ENR, CN, EFT, AMP
SEN 95	S. Enteritidis	AMC, AMP
SSE 2	S. Senftenberg	ENR, TE
SGB 1	Salmonella Grupo B (1 4, 5, 12, b)	TE
SIN 3	S. Infantis	AMP
SDU 1	S. Dublin	Susceptible
SHE 1	S. Heidelberg	ENR, AMP
SAG 2	S. Agona	Susceptible
SHE 2	S. Heidelberg	TE, AMP
SHE 3	S. Heidelberg	ENR, TE
SSE 3	S. Senftenberg	ENR, TE
SHE 4	S. Heidelberg	AMC
SAN 1	S. Anatum	AMP
SHA 2	S. Habana	ENR
SEN 97	S. Enteritidis	AMC, TE
SEN 98	S. Enteritidis	CTX, TE
SEN 99	S. Enteritidis	CTX, CN, TE, CE

SEN 101	S. Enteritidis	TE
SEN 103	S. Enteritidis	TE, AMP
SEN 104	S. Enteritidis	ENR, CN, TE, EFT, AMP
SEN 105	S. Enteritidis	CN, TE, AMP
SEN 106	S. Enteritidis	ENR, AMC, TE, AMP
SEN 107	S. Enteritidis	TE, CE, AMP
SEN 108	S. Enteritidis	CN, TE, AMP
SEN 109	S. Enteritidis	TE
SEN 110	S. Enteritidis	ENR, TE, STX, CE
SEN 111	S. Enteritidis	CN, TE, STX, AMP, CFR
SEN 112	S. Enteritidis	TE, CE, AMP
SEN 113	S. Enteritidis	TE
SEN 114	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 115	S. Enteritidis	TE
SEN 116	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 117	S. Enteritidis	TE
SEN 118	S. Enteritidis	TE
SEN 119	S. Enteritidis	TE
SEN 120	S. Enteritidis	TE
SEN 121	S. Enteritidis	TE, CE
SEN 122	S. Enteritidis	TE, EFT
SEN 123	S. Enteritidis	TE, CE
SEN 124	S. Enteritidis	TE
SEN 125	S. Enteritidis	TE
SEN 126	S. Enteritidis	TE
SEN 127	S. Enteritidis	TE, EFT
SSE 6	S. Senftenberg	Susceptible
SSE 7	S. Senftenberg	Susceptible

ID* Identificación de la cepa.

*ENR Enrofloxacino, AMC Amoxicilina + Acido Clavulánico, CTX Cefotaxima, CN Gentamicina, TE Tetraciclina, STX Sulfametazol +Trimetoprim, EFT Ceftiofur, CE Cefradina, AMP Ampicilina, CFR Cefadroxilo.

Resistencia antimicrobiana en Aves Comerciales

Para el análisis de aves comerciales se trabajó con un total de 30 cepas (100%), de las cuales 14 cepas (47%) fueron susceptibles y 16 (53%) resistente al menos a un agente antimicrobiano. Los fenotipos de resistencia de cada antimicrobiano se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde aves comerciales.

ID*	Serotipo	Resistencia Antimicrobiana
SEN 1	S. Enteritidis	CTX, EFT
SEN 2	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 3	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 5	S. Enteritidis	ENR
SEN 6	S. Enteritidis	TE, STX
SEN 7	S. Enteritidis	ENR, TE, STX
SEN 10	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 11	S. Enteritidis	EFT
SEN 12	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 13	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 14	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 31	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 32	S. Enteritidis	AMP
SEN 37	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 38	S. Enteritidis	EFT
SEN 39	S. Enteritidis	EFT
SEN 45	S. Enteritidis	EFT
SEN 80	S. Enteritidis	EFT, CFR
SEN 81	S. Enteritidis	TE
SEN 82	S. Enteritidis	CE
SEN 83	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 84	S. Enteritidis	TE, EFT, CE
SEN 85	S. Enteritidis	Susceptible

SEN 86	S. Enteritidis	CE
SEN 87	S. Enteritidis	TE
SEN 88	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 89	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 90	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 91	S. Enteritidis	CFR
SEN 92	S. Enteritidis	Susceptible

ID* Identificación de la cepa.

*ENR Enrofloxacino, AMC Amoxicilina + Acido Clavulánico, CTX Cefotaxima, CN Gentamicina, TE Tetraciclina, STX Sulfametazol +Trimetoprim, EFT Ceftiofur, CE Cefradina, AMP Ampicilina, CFR Cefadroxilo.

Resistencia antimicrobiana en Humanos

Para el análisis de cepas humanas se trabajó con un total de 32 cepas (100%), de las cuales 22 cepas (69%) fueron susceptibles y 10 (31%) resistentes al menos a un agente antimicrobiano. Los fenotipos de resistencia se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5: Fenotipos de resistencia a antimicrobianos en cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde humanos.

ID *	Serotipo	Resistencia Antimicrobiana
SEN 21	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 22	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 24	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 25	S. Enteritidis	STX, CFR
SEN 27	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 29	S. Enteritidis	EFT
SEN 30	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 50	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 51	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 52	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 53	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 54	S. Enteritidis	EFT

SEN 55	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 56	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 62	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 63	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 64	S. Enteritidis	CN
SEN 65	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 66	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 67	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 68	S. Enteritidis	CTX
SEN 69	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 70	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 71	S. Enteritidis	CE
SEN 72	S. Enteritidis	TE
SEN 73	S. Enteritidis	TE, AMP
SEN 74	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 75	S. Enteritidis	CE
SEN 76	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 77	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 78	S. Enteritidis	Susceptible
SEN 79	S. Enteritidis	EFT

ID* Identificación de la cepa.

*ENR Enrofloxacino, AMC Amoxicilina + Acido Clavulánico, CTX Cefotaxima, CN Gentamicina, TE Tetraciclina, STX Sulfametazol +Trimetoprim, EFT Ceftiofur, CE Cefradina, AMP Ampicilina, CFR Cefadroxilo.

II. Identificar fenotipos de resistencia a antibióticos asociados a hospederos en cepas de S. Enteritidis.

A través del programa Infostat (v2010) se analizaron las cepas en tablas de contingencia para análisis de datos categóricos utilizando el estadístico de Chi cuadrado X^2 (Tabla 6).

Tabla 6: Antimicrobianos evaluados y significancia (valor de p).

Antimicrobiano	P
Enrofloxacino	0,2190
Amoxicilina + Ácido clavulánico	0,0474
Cefotaxima	0,4406
Gentamicina	0,0258
Tetraciclina	< 0,0001
Sulfametoxazol + Trimetoprim	0,7745
Ceftofur	0,2555
Cefadrina	0,2642
Ampicilina	0,0016
Cefadroxilo	0,7203

Dentro de los fenotipos de resistencia que fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$) se encuentran: Amoxicilina + Ácido Clavulánico, Gentamicina, Tetraciclina y Ampicilina, los cuales están asociados a la gaviota dominicana como su hospedero de origen.

5. DISCUSIÓN

La aparición de resistencia a antimicrobianos por parte de las bacterias zoonóticas es un problema de la salud pública a nivel mundial. Este involucra un componente médico, social, económico y ético, dado a que las infecciones producidas por estas bacterias traen como consecuencia prolongadas hospitalizaciones, ausencia laboral y terapias con antibióticos más costosos, lo cual afecta a toda la sociedad.

A nivel macro este proyecto entrega la información necesaria para insertarse en la problemática de resistencia a antimicrobianos, a través del estudio de cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde aves acuáticas, aves comerciales y seres humanos durante los años 2011 y 2012. Presenta datos innovadores sobre la situación de las aves acuáticas, debido a que en Chile existen pocos estudios sobre la resistencia a antimicrobianos en esta especie. También, permite evaluar nichos ecológicos, describiendo a las aves acuáticas como un importante reservorio en cepas de *Salmonella* resistentes. Asimismo exponen los riesgos en que se encuentran insertas las personas y en consecuencia permite abordar una mirada crítica de la situación.

Al analizar los datos existe una clara diferencia entre los niveles de resistencia a antibióticos entre las especies analizadas, teniendo un mayor porcentaje de resistencia las cepas de aves acuáticas, seguidas de las aves comerciales y en último lugar los seres humanos (Tabla 2).

Resistencia a antimicrobianos en Aves Acuáticas

Las gaviotas Dominicanas (*Larus dominicanus*), se consideran una especie residente exitosa a los hábitos antrópicos debido a su estrecho contacto con los seres humanos y animales domésticos. Lo anterior, se explica ya que estas aves junto con otras especies silvestres, han sido desplazadas de su medio natural por causa humana.

Entre los principales motivos de alteración del nicho ecológico se encuentran: expansión de ciudades, deforestación permanente, contaminación del agua, construcción de puertos y otras infraestructuras cerca del hábitat natural del ave, entre otros. Como resultado de la constante comunicación entre los seres humanos y las aves, es posible la adquisición de

ciertos patógenos zoonóticos, como es el caso de *Salmonella*. Tal cual lo describe un estudio realizado en la ciudad de Talcahuano, Chile por López- Martín *et al.* 2011 cuyo objetivo fue la detección de especies de *Salmonella* en gaviotas dominicanas y gaviotas de Franklin. Los autores indican un 25,2% de aves positivas a *Salmonella*, señalando el importante rol que cumplirían éstas como diseminador de bacterias tanto a humanos como animales. Sin embargo la vía de transmisión, no está totalmente esclarecida.

Levantesi *et al.*, 2012, sugieren al agua como uno de los principales vehículos de transmisión de *Salmonella*, sin embargo su fuente de origen es discutible. La bacteria se ha detectado en lugares tan diversos como: ríos, lagos, estanques, aguas subterráneas y agua potable, por lo tanto entre las posibles fuentes de la bacteria se encuentran: seres humanos, animales domésticos y animales de vida silvestre. El estudio del agua como vehículo de transmisión de bacterias zoonóticas entre ellas, *Salmonella*, ha cobrado mayor importancia durante este último tiempo. Dentro de las últimas investigaciones desarrolladas por el Instituto de Salud Pública (Área Microbiología de los Alimentos) se detectó la presencia de *Salmonella spp.* y *E. coli* diarreogénico en cursos de aguas superficiales de la Región Metropolitana por Ultrafiltración Tangencial, obteniendo como resultado la detección de *Salmonella spp.* en 15 muestras e identificando 12 serogrupos (Rojas- Aedo *et al.*, 2013).

Salmonella puede ingresar al medio ambiente acuático directamente con las heces de los seres humanos, animales domésticos y silvestres infectados o indirectamente a través de la descarga de aguas residuales o escorrentía de tierras agrícolas. Se ha descrito que las plantas, los insectos y las algas son capaces de albergar a la bacteria y podrían estar implicados en la transmisión de este patógeno entérico.

Junto con detectar *Salmonella*, es de suma importancia indicar la resistencia a antibióticos que ésta posea, debido a que los antibióticos son las herramientas a utilizar frente a enfermedades prolongadas y complicadas.

Miller *et al.*, 2009 realizaron un estudio sobre la resistencia a antibióticos entre bacterias aisladas desde agua de mar y muestras fecales de pingüinos en la Estación Palmer, Antártida. En sus resultados vieron que la presencia humana ha impactado la microflora natural del sitio, comprobando la resistencia a antibióticos. En relación a las heces de

pingüinos también se determinó que la resistencia fue mayor donde residía una gran colonia, y que además ésta era bastante variable. A la luz de lo expuesto, nos permite contrastar esta situación con los datos analizados en las gaviotas, ya que estas no viven en un ambiente inhabitado como los pingüinos, sino más bien con un estrecho contacto con la población humana, con sus desechos biológicos, farmacológicos y próximas a las ciudades, por lo tanto se sugiere un evidente ciclo de transmisión humano- silvestre y viceversa, donde los humanos pueden actuar como foco diseminador de enfermedades o transportadores de cepas multi-resistentes y las gaviotas como receptores y portadores de agentes de importancia zoonótica.

Evidencia real de esta transmisión inter-especies se explica por el gran porcentaje de resistencia a antimicrobianos detectada en cepas de *Salmonella enterica* aisladas desde aves acuáticas, donde se obtuvo un total de 42 cepas resistentes (Tabla 3), lo cual equivale al 86% del total de cepas de aves acuáticas analizadas. En este caso las cepas mostraron mayor resistencia al antibiótico tetraciclina, con un total de 33 cepas resistentes (Figura 1).

En relación a la asociación de fenotipos de resistencia asociado a sus hospederos, se determinó que las aves acuáticas presentan cepas de *Salmonella* asociada a su hospedero de origen, demostrando una resistencia significativamente mayor a 4 antibióticos: amoxicilina + ácido clavulánico, gentamicina, tetraciclina y ampicilina (Tabla 6).

La mayor resistencia a tetraciclina se asemeja al estudio realizado en gaviotas de cabeza negra por Dolesjká *et al.*, 2009 en el noreste de la República Checa, quienes evaluaron resistencia a antibióticos en *Salmonella*, donde el serotipo Hadar, compartió el perfil de resistencia a tetraciclina al igual que nuestro estudio.

Sin embargo es necesario analizar cómo tetraciclina llegar a ser el antibiótico al cual las cepas presentan mayores porcentajes de resistencia en relación a los otros antimicrobianos evaluados. Las tetraciclinas constituyen una familia de productos naturales (clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina) y semisintéticos (metaciclina, doxiciclina, minociclina, limeciclina, rolitetraciclina y tigececlina) que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas (Vicente & Pérez-Trallero, 2010). Una de las principales

producciones pecuarias en que se utilizan estos antibióticos es la acuicultura, como es el caso de la industria del salmón.

La salmonicultura ha tenido un explosivo aumento durante los últimos años, lo que la ha convertido en uno de los negocios más rentables en nuestro país. Esta situación ha sido amparada por las condiciones favorables y únicas que han situado a Chile como el segundo productor de este alimento (Fortt, 2007). Sin embargo, uno de los principales factores que afecta a la industria acuícola, son las pérdidas en la producción a causa de morbilidad y mortalidad en los salmónidos.

Según los datos presentados por SERNAPESCA 2012, en el Informe sobre uso de antimicrobianos en la salmonicultura nacional, los antibióticos más utilizados durante este periodo fueron: florfenicol 54%, oxitetraciclina 43%, amoxicilina 1%, flumequina 1% y eritromicina 1%. Este gran uso de antibióticos en Chile, es muy diferentes a otros países como Noruega y Estados Unidos, en los cuales el uso de antibióticos es aún más limitado (Cabello, 2003).

Ante los datos presentados resalta en primer lugar la gran participación de antibióticos en la industria, donde es predominante el tratamiento con antimicrobianos los cuales no se utilizan como terapia sino más bien como medida profiláctica. En segundo lugar podemos notar el exagerado uso de oxitetraciclina y amoxicilina en la industria salmonera. En los resultados de esta tesis, estos dos antibióticos se encuentran asociados a su hospedero de origen (Tabla 6), las gaviotas dominicanas, por lo tanto se puede sugerir que la gran utilización de este antibiótico en la industria acuícola, podría tener repercusiones en la fauna silvestre, como se evidenció en este caso en las aves acuáticas, sin embargo se necesitan más estudios para confirmar esta aseveración.

Por ende, nos enfrentamos a un escenario donde el antibiótico utilizado en masivas cantidades en la industria acuícola, pertenece a la misma familia que presentó la mayor resistencia a antibióticos en muestras fecales encontradas en gaviotas que es tetraciclina (Tabla 2 y Figura 1), esto nos permite acentuar la relación entre el sistema productivo (salmones) con el ciclo silvestre (gaviotas) y aseverar que este ciclo silvestre puede llegar a la contaminación humana.

Los antibióticos son administrados a los peces a través del alimento. Si bien gran porcentaje de este alimento es ingerido, porciones menores quedan en cantidad suficiente suspendidas en el mar y son consumidas por otras especies marinas. Lo anterior se afirma en un estudio realizado por Fortt *et al.*, 2006 quienes evaluaron “Residuos de tetraciclinas y quinolonas en peces silvestres en una zona costera donde se desarrolla la acuicultura del salmón en Chile”. En el estudio se investigó la presencia de oxitetraciclina y quinolonas: ácido oxolínico y flumequina, ambos antimicrobianos más utilizados en la industria acuícola en Chile. Los resultados confirmaron que los peces silvestres, que viven alrededor de los recintos de acuicultura y que son consumidos por los humanos, ingieren alimento preparado para salmón; y que si este alimento está medicado con antimicrobianos u otros fármacos, éstos pasan a la carne de los peces y permanecen en ellas en cantidades detectables. Por lo tanto en relación a estas evidencias del impacto del uso de antimicrobianos, es que se requieren de más estudios tanto del recurso hídrico como las explotaciones para evaluar la situación en las que nos encontramos.

Resistencia a antimicrobianos en Aves Comerciales

En el área de la producción animal, se utilizan mayoritariamente moléculas muy eficientes de bajo costo y amplio espectro como tetraciclinas, penicilinas, macrólidos y sulfas. Los antimicrobianos en aves más consumidos en nuestro país, son las tetraciclinas, quinolonas y fluoroquinolonas (Lapierre, 2007).

El uso de antibióticos en la comida animal selecciona genes de resistencia que pueden ser transferidos a los humanos a través del consumo o manipulación de alimentos de origen animal. Es por eso que la disponibilidad y seguridad de una efectiva terapia antimicrobiana en humanos y animales depende del uso responsable de estos.

En un estudio sobre la prevalencia de *Salmonella* asociado con la mortalidad de pollos y su susceptibilidad a agentes antimicrobianos realizado por Muhammad *et al.*, 2010 en Nigeria, se aisló principalmente *Salmonella* Kentucky y *Salmonella* Hadar, y se obtuvo como resultado un 100% de resistencia a gentamicina, enrofloxacino, ácido nalidixico, tetraciclinas y estreptomycin. A diferencia, los resultados obtenidos en esta memoria revelaron un total de 16 cepas resistentes en aves comerciales (Tabla 4), lo que equivale al 53% del total de cepas analizadas respecto a esta especie. Las cepas de *S. enterica*

fueron en primer lugar más resistentes al antimicrobiano ceftiofur, seguido por tetraciclina (Figura 1). Sin embargo los serotipos analizados son distintos en ambos casos, por lo que las diferencias no son concluyentes.

Si bien existió un pequeño porcentaje de resistencia a antimicrobianos en aves, esta no es significativa y tampoco existe asociación con su hospedero de origen (Tabla 6) por ende permite concluir que en la industria avícola posiblemente se rigen por las normas de minimizar el uso de antibióticos como promotores del crecimiento y como medida profiláctica. Sin embargo, se debe considerar que las muestras analizadas corresponden precisamente a plantales de exportación, por lo que la realidad de aquellos destinados al consumo interno puede ser totalmente distinta.

Resistencia a antimicrobianos en Humanos

El incremento de las tasas de resistencia a los agentes antimicrobianos tradicionales (ampicilina, cloranfenicol, sulfametaxol- trimetoprim) se ha convertido en un gran problema para el tratamiento de las infecciones causadas por *Salmonella* no tifoideas. Actualmente las fluoroquinolonas y las cefalosporinas son las drogas de elección. Sin embargo la emergencia de la resistencia a estos medicamentos es de gran preocupación ya que estas son las drogas utilizadas en infecciones por cepas de *Salmonella* no tifoideas resistentes a múltiples drogas en humanos (Tsai *et al.*, 2010).

Diversos trabajos como el realizado por Tsai *et al.*, 2010 junto con Hung-Ming *et al.*, 2013, concluyen que una terapia corta con Ceftriaxona durante 3 a 5 días en pacientes con enfermedad sistémica es una terapia eficaz para la recuperación clínica.

En esta tesis se evaluó la resistencia a dos generaciones de cefalosporinas: primera y tercera generación. Entre las de primera generación encontramos: cefadroxilo y cefradina y en tercera generación cefotaxima y ceftiofur.

Los resultados indicaron que en el caso de las cefalosporinas hubo un total de 10 cepas resistentes (Tabla 5) lo que equivale al 31% del total de cepas humanas analizadas. De estas, 3 cepas fueron resistentes a primera generación y sólo 4 a tercera generación (Tabla 5). Esta resistencia es mínima, lo que puede significar que existe una mayor

regulación por parte de los médicos humanos en la prescripción de medicamentos. Posiblemente medidas como una correcta prescripción de medicamentos, junto con realización de antibiograma antes de iniciar una terapia empírica ha permitido evitar el abuso de antibióticos, lo cual es una situación muy favorable para la salud pública.

Sin embargo, se debe considerar que debido a que la mayoría de las infecciones entéricas por *Salmonella* son en su mayoría autolimitantes y son pocas las personas que acuden a centros asistenciales, y menos con las que llegan a un diagnóstico oportuno mediante exámenes de laboratorio, es que esta cantidad podría encontrarse subestimada y tal vez sería necesario analizar en próximos trabajos una mayor cantidad de muestras para así tener una mejor interpretación de los resultados.

6. CONCLUSIONES

- 1.** Existen diferentes fenotipos de resistencia en cepas de *S. Enteritidis* aisladas desde aves acuáticas, aves comerciales y humanos detectados en Chile.
- 2.** Existen fenotipos de resistencia a antibióticos asociados a hospederos en cepas de *S. Enteritidis*, dentro de ellos encontramos: Tetraciclina, Amoxicilina - Ácido Clavulánico, Gentamicina y Ampicilina.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ALOS, J.** 2009. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 27 (5): 290- 297.
- ALVAREZ, E.; ALONSO, C.; GARCIA, C.; CAPITA, R.** 2012. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006. *Int J Food Microbiol.* 153: 281-287.
- BEARSON, S.; RASMUSSEN, M.** 2006. Identification of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium genes important for survival in the swine gastric environment. *Appl Environ Microbiol.* 72: 2829-2836.
- BECEIRO, A.; TOMAS , M.; BOU, GERMAN.** 2012, Resistencia a los antimicrobianos y virulencia, ¿Una asociación beneficiosa para el mundo antimicrobiano?. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 30 (8):492-499.
- CABELLO, F.** 2003. Antibióticos y Acuicultura en Chile: Consecuencias para la salud humana y animal. *Rev Méd Chil.* 132: 1001-1006.
- CLSI.** 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. 27(3): 1-182.
- CLSI.** 2008. Table 2: Zone diameter interpretive standards and minimal inhibitory concentration (MIC) breakpoint for veterinary pathogens. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals; approved standard- Third Edition. Pag: 65.
- COSSART, P.; SANSONETTI, P.** 2004. Bacterial Invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science.* 304: 242-248.
- DAVIES, J.; DAVIES, D.** 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol R.* 74 (3): 417-433.
- DOLEJSKA, M.; BIEROSOVA, B.; KOHOUTOVA,L.; LITERAK, I.; CIZEK, A.** 2009. Antibiotic- resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons

and extended- spectrum beta- lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. J Appl Microbiol. 106: 1942-1950.

FICA, A.; ALEXANDRE, M.; PRAT, S.; FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ, J.; HEITMAN, I. 2001. Cambios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile. Desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. Rev Chil Infect. 18 (2): 85-93.

FORTT, A. 2007. Uso y Abuso de Antibióticos en la Salmonicultura. OCEANA. Doc 23: 1-14.

FORTT, A.; CABELLO, F.; BUSCHMANN, R. 2006. Residuos de tetraciclina y quinolonas en peces silvestres en una zona costera donde se desarrolla la acuicultura del salmón en Chile. Rev Chil Infect. 24 (1): 14-18.

FOLEY, S.; LYNNE, A. 2008. Food animal- associated *Salmonella* chanlleges: Pathogenicity and Antimicrobial resistance. J Anim Sci. 86: E: 173- 187.

HANNING, I.; NUTT, J.; RICKE, S. 2009. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: Sources and potential intervention measures. Foodborne Pathogens Dis.6 (6): 635-648

HUNG-MIG, C.; YUE, W.; LIN-HUI, S.; CHENG-HSUN, C. 2013. Nontyphoid *Salmonella* Infection: Microbiology, Clinical Features, and antimicrobial therapy. Pediatr Neonatol. 54: 147-152. Pediatr Neonatol

LAPIERRE, L. 2007. Caracterización fenotípica y genotípica de resistencia a antimicrobianos en cepas de *Salmonella* spp, *E.coli* y *Enterococcus* spp., aisladas de aves y cerdos. Tesis Doctor en Cs. Silvoagropecuarias y Veterinarias. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias.

LEVANTESI, C.; BONADONNA, L.; BRIANVESCO, R.; GROHMANN, E.; TOZE, S.;TANDOI, V. 2012. Salmonella in surface and drinking water: Occurrence and water- mediated transmission. Food Res Int. 45: 587- 602

LÓPEZ-MARTÍN, J.; JUNOD, T.; RIQUELME, F.; CONTRERAS, C.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D. 2011. Detección de especies de *Salmonella* y *Mycobacterium* en

gaviotas dominicanas (*Larus dominicanus*) y gaviotas de Franklin (*Leucophaeus pipixcan*) en la ciudad de Talcahuano, Chile. Rev Méd Chile. 139: 1496-1502.

MARTELLI, F.; DAVIES, R. 2012. *Salmonella* serovars isolated from table eggs: An overview. Food Res Int. 45: 745-754.

MESSENS, W.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L. 2005. Eggshell penetration by *Salmonella*: a review. World Poultry Sci J. 61: 71-85.

MILLER, R.; GAMMON, K.; DAY, M. 2009. Antibiotic resistance among bacteria isolated from seawater and penguin fecal samples collected near Palmer Station, Antarctica. Can J Microbiol. 55: 37-45.

MIRIAGOU, V.; TASSIOS, P.; LEGAKIS, N.; TZOUVELEKIS, L. 2004. Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. Int J Antimicrobial Ag. 23 (6): 547-555.

MOLINA, R.; VALVERDÚ, N.; MARTIN, M.; MATEU, E.; OBON, E.; CERDA, M.; DARWICH, L. 2011. Wild raptors as carriers of antimicrobial-resistant *Salmonella* and *Campylobacter* strains. Vet Rec. 168: 565- 568

MOORE, C.; BARUNA, P.; PEGUES, D.; MILLER, S. 2011. Nontyphoidal Salmonellosis. In: Tropical Infectious Disease: Principles, Pathogens and Practice (Thir Edition). Chapter 17- 128-136.

MUHAMMAD, M.; MUHAMMAD, L.; AMBALI, A.; MANI, A.; AZARD, S.; BARCO, L. 2010. Prevalence of *Salmonella* associated with chick mortality at hatching and their susceptibility to antimicrobial agents. Vet Microbiol. 140: 131-135.

NEWELL, D.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFFALL, J.; SCHEUTZ, F.; VAN DER GIESSEN, J.; KRUSE, H. 2010. Food-borne diseases- The challenges of 20 year ago still persist while new ones continue to emerge. Int J Food Microbiol. 139: S3-S15.

- OIE.** 2008. Salmonellosis. OIE Terrestrial Manual 2008. Chapter 2.9.9: 1267-1283.
- OLEA, A.; DIAZ, J.; FUENTES, R.; VAQUERO, A.; GARCIA, M.** 2012. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. Rev Chil Infect. 29 (5): 504-510.
- ROJAS- AEDO, JF.; MORALES, O.; JARA, M.; FERNANDEZ, A.; DUARTE, S.; IBAÑEZ, D.; ARANCIBIA, C.; MATÍNEZ, MC.** 2013. Detección de *Salmonella spp.* y *E. coli* diarreogénico en cursos de aguas superficiales de la Región Metropolitana por Ultrafiltración Tangencial. XXXV Congreso Chileno de Microbiología (SOCHIM). Libro de resúmenes. PAG: 253.
- SEFTON, A.** 2002. Mechanisms of antimicrobial resistance: Their clinical relevance in the new millennium. Drug 62: 557-566.
- SERNAPESCA.** 2012. Informe sobre uso de antimicrobianos en la salmonicultura nacional. Unidad Salud Animal: 1-13.
- SE- YOUNG, C.; KANG, M.; RAN- HEE, Y.; CHOI- KYU, P.; OUN-KYOUNG, M.; HYUNG-KWAN, J.** 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates in Pekin ducks from South Korea. Comp Immunol Microb. 36: 473– 479.
- TIZARD, I.** 2004. Salmonellosis in wild birds. Sem Avian Exot Pet. 13 (2): 50-66.
- TOLLEFSON, L.; KARP, B.** 2004. Human health impact from antimicrobial use in food animals. Med Maladies Infect. 34: 514-521.
- TORO, M.; SERAL, C.; ROJO, B.; TORRES, C.; CASTILLO, F.; SAENZA, Y.** 2013. Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella enterica*. Enferm Infecc Microbiol Clin. Article in Press. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.006>.
- TSAI, M.; HUANG, Y.; LIN, T.; HUANG, Y.; KUO, C.; CHIU, C.** 2010. Reappraisal of parenteral antimicrobial therapy for nontyphoidal *Salmonella* enteric infection in children. Clin Microbiol Infect. 17:300-305.

TSIODRAS, S.; KELESIDIS, T.; KELESIDIS, L.; BAUCHINGER, U.; FALAGAS, M. 2008. Human infections associated with wild birds. *J Infection*. 56: 83-98.

VELGE, P.; CLOECKAERT, A.; BARROW, P. 2005. Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Vet Res*. 36: 267-288.

VICENTE, D.; PÉREZ- TRALLERO, E. 2010. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 28 (2): 122-130.

VOETCH, 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. *Clin Infect Dis* 38 (3): S127-S134.

WHITE, D.; ZHAO, S.; SIMJEE, S.; WAGNER, P.; MCDERMOTT, P. 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes Infect*.4: 405-412.

WHO. 2011. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. [En línea]<<http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance>> [consulta: 01-04-2013]