



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

**COMPARACIÓN DE LOS PERFILES GENÉTICOS DE  
RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Salmonella*  
*enterica* OBTENIDAS DE DISTINTOS HOSPEDEROS EN CHILE**

**María Belén Benavides Vicencio**

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

PROFESOR GUÍA: PATRICIO RETAMAL MERINO  
Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE  
2015



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

**COMPARACIÓN DE LOS PERFILES GENÉTICOS DE  
RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Salmonella*  
*enterica* OBTENIDAS DE DISTINTOS HOSPEDEROS EN CHILE**

**María Belén Benavides Vicencio**

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

Nota Final: ....., .....

Prof. Guía: Patricio Retamal Merino Firma:

Profesor Corrector: Lisette Lapierre Acevedo Firma:

Profesor Corrector: Pedro Abalos Pineda Firma:

SANTIAGO, CHILE  
2015

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que estuvieron apoyándome en este proceso y que de cierta forma me ayudaron a conseguir este sueño. En primer lugar, a mi familia, mis padres Cristina y Agustín, por brindarme su apoyo y cariño. A mi abuelita Nena y mi hermano Claudio, quienes han sido un pilar fundamental durante toda mi vida y me dieron la fuerza necesaria para continuar esta etapa, que no estuvo exenta de obstáculos y dificultades, pero que logré sobrellevar gracias a su alegría y al infinito amor que me entregaron.

No puedo dejar de agradecer a mis amigas del colegio, Patricia, Camila, Paulina y Sarah, quienes a pesar del tiempo, estuvieron presentes brindándome su amistad incondicional, apoyo y cariño.

Agradezco a mis amigos de universidad por todos los momentos compartidos durante estos años. En primer lugar a Karina por creer en mí, por su preocupación, cariño y compañía. A Víctor por confiar en mí, ayudarme y estar conmigo siempre que lo he necesitado. Finalmente, quiero agradecer de manera especial a Nadia, por creer siempre en mí y por su apoyo incondicional, acompañándome en los buenos y malos momentos.

Además quiero agradecer a los docentes que me permitieron realizar esta Memoria de Título. A mis profesores correctores, Lisette Lapierre y Pedro Abalos, y a mi profesor guía, Patricio Retamal, por su paciencia, el tiempo dedicado y su buena disposición para ayudarme siempre en todo lo que necesité.

Finalmente, agradezco a mis compañeros de laboratorio y a las personas que trabajan en el Departamento, especialmente a Patricia y Octavio, quienes me brindaron su cariño, apoyo y preocupación.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
Introducción.....	1
Revisión Bibliográfica.....	2
Hipótesis.....	10
Objetivo General.....	10
Objetivos Específicos.....	10
Materiales y Métodos.....	11
Resultados.....	14
Discusión.....	19
Conclusiones.....	26
Bibliografía.....	27
Anexos.....	32

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
Tabla 1: Valores relativos de cepas resistentes a antimicrobianos según hospedero .....	8
Tabla 2: Cepas evaluadas, especie de origen y perfiles fenotípicos de resistencia a antimicrobianos detectados por Lillo (2014) .....	32
Tabla 3: Genes asociados a resistencia antimicrobiana y características de los partidores utilizados para su detección .....	11
Tabla 4: Mix PCR convencional.....	12
Tabla 5: Condiciones PCR.....	12
Tabla 6: Perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas .....	14
Tabla 7: Genes de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas .....	16
Tabla 8: Genes de resistencia antimicrobiana presentes en cepas de <i>S. enterica</i> ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y humanos .....	17
Tabla 9: Genes de resistencia antimicrobiana evaluados y significancia estadística (valor de p) .....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
Figura 1: Gráfico de perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas .....	15
Figura 2: Gráfico de genes de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas .....	16

## RESUMEN

En la actualidad la detección de cepas bacterianas resistentes a múltiples agentes antimicrobianos parece ir en aumento y se atribuye principalmente a la inadecuada utilización de ellos. Estos fármacos han permitido la selección de genes de resistencia en bacterias zoonóticas, como *Salmonella*, los cuales pueden diseminarse a los seres humanos a través de la cadena alimentaria. Además cobra importancia el rol de las aves silvestres como reservorios y agentes diseminadores de genes de resistencia a antibióticos hacia los seres humanos y otros animales. El objetivo de esta Memoria de Título fue comparar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos en Chile, y determinar su relación con el hospedero de origen de estas cepas.

Se analizaron 96 cepas en total, de las cuales 33 fueron aisladas desde aves silvestres, 31 de aves comerciales y 32 de seres humanos. Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para determinar los perfiles de resistencia antimicrobiana. Los genes seleccionados fueron: *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(G)* (resistencia a tetraciclinas), *bla<sub>PSE-1</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CMY</sub>* (resistencia a  $\beta$ -lactámicos), *aadB*, *aacC* (resistencia a aminoglicósidos) y además se detectó la presencia de integrones clase 1. Para determinar la asociación de los perfiles genéticos de resistencia con su hospedero de origen se utilizó el programa Infostat®.

De las 96 cepas analizadas en esta Memoria, se encontraron 13 perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana diferentes, los cuales resultaron estar asociados con el hospedero de origen de las cepas. Adicionalmente, los datos obtenidos fueron analizados con la finalidad de determinar la asociación de genes de resistencia antimicrobiana con hospedero de origen de las cepas, siendo *tet(A)* el único gen asociado a cepas obtenidas de aves silvestres.

Los resultados de esta Memoria proporcionan evidencia sobre los efectos colaterales que provoca la sobreutilización de antimicrobianos en el medio ambiente, impactando indirectamente en la fauna silvestre.

Palabras claves: *Salmonella enterica* ser. Enteritidis, genes de resistencia antimicrobiana, hospederos.

## ABSTRACT

Detection of bacterial strains resistant to multiple antimicrobial agents seems to be increasing nowadays, mainly due to their inadequate use. These drugs have allowed the selection of resistant genes on zoonotic bacteria, such as *Salmonella*, which can spread to human beings through the food chain. In addition, it is important the role of wild birds as reservoirs and spreading agents of antimicrobial resistance genes towards human beings and other animals. The objective of this work was to compare the genetic profiles of antimicrobial resistance of *S. enterica* ser. Enteritidis strains from wild and commercial birds, as well as from human beings in Chile, and to determine their relationship with the host of origin.

Ninety six strains were analyzed, from which 33 were isolated from wild birds, 31 from commercial birds, and 32 from human beings. Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was used to determine the antimicrobial resistance profiles. Selected genes were: *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(G)* (tetracycline resistance), *bla<sub>PSE-1</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CMY</sub>* ( $\beta$ -lactam resistance), *aadB*, *aacC* (aminoglycoside resistance) and also the presence of class 1 integrons was detected. The program Infostat® was used to determine the association of genetic profiles of resistance with their host of origin.

Thirteen different genetic profiles of antimicrobial resistance were found from the 96 strains analyzed, which were associated with the strain's host. Also, the *tet(A)* gene was associated with strains isolated from wild birds.

The results of this study provide evidence about the collateral effects in the environment that come from the overuse of antimicrobials, indirectly affecting wildlife.

**Key words:** *Salmonella enterica* ser. Enteritidis, antimicrobial resistance genes, hosts.



## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un importante problema de salud pública a nivel mundial. Estas enfermedades se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos o sustancias químicas en cantidades suficientes para afectar la salud de los consumidores.

Entre los principales agentes bacterianos comúnmente reconocidos como causantes de ETA, se encuentra *Salmonella enterica*, siendo el consumo de productos avícolas, la fuente de infección más frecuente para los seres humanos. Sin embargo, las aves silvestres también son reservorios de *Salmonella*, y podrían representar una fuente de diseminación del patógeno para los animales y seres humanos.

En la actualidad, el desarrollo de resistencia antimicrobiana en patógenos de importancia clínica genera gran interés sanitario, tanto por sus implicancias médicas, como socioeconómicas. La emergencia de cepas de *Salmonella* resistentes a múltiples agentes antimicrobianos parece ir en aumento y se atribuye principalmente a la inadecuada utilización de ellos, tanto en medicina humana como veterinaria.

El excesivo uso de antimicrobianos en la producción pecuaria ha generado un impacto en la salud pública, ya que ha permitido la selección de genes de resistencia en bacterias zoonóticas, como *Salmonella*, los cuales pueden ser transmitidos hacia los seres humanos a través de la cadena alimentaria. Por otro lado, es importante considerar a las aves silvestres como posibles reservorios de genes de resistencia a antimicrobianos y estudiar su rol en la diseminación de estos hacia los seres humanos y otros animales.

El objetivo principal de esta Memoria de Título es comparar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* serotipo Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos en Chile, y determinar su relación con el hospedero de origen de estas cepas.

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **Características del agente**

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa zoonótica producida por bacterias del género *Salmonella*, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. De acuerdo a la nomenclatura actual, el género *Salmonella* está compuesto por dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez, *S. enterica* se subdivide en seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (Sánchez *et al.*, 2011).

En la actualidad se reconocen más de 2.500 serotipos de *Salmonella*, siendo *S. enterica* la subespecie que contiene los serotipos más comúnmente asociados a infecciones en los seres humanos y en animales de abasto. Los serotipos de *Salmonella* no tífica se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, incluyendo el tracto gastrointestinal de mamíferos, reptiles, aves e insectos. Se describe que esta bacteria es capaz de sobrevivir por largos periodos de tiempo fuera de su hospedero y persistir en el medio ambiente, siendo aislada con frecuencia en vertidos de granjas, en aguas residuales humanas y en cualquier material con contaminación fecal (OIE, 2008; Ethelberg y Mølbak, 2014).

### **Infección en animales y seres humanos**

Especies productivas, especialmente aves y cerdos, pueden estar infectados con *Salmonella*, pero no mostrar signología clínica, siendo portadores sanos de la infección. Estos animales cobran especial relevancia en la diseminación del patógeno dentro de las explotaciones animales, ya que la bacteria coloniza el tracto gastrointestinal y se excreta a través de las heces, representando una fuente de infección persistente para el resto de los animales debido a la transmisión fecal-oral (OIE, 2008; Hur *et al.*, 2011).

Existen diversas formas de transmisión de *Salmonella* desde los animales hacia los seres humanos, tales como el contacto con animales domésticos y silvestres infectados, y la contaminación fecal de alimentos y/o fuentes de agua. Sin embargo, la infección en los seres humanos se adquiere generalmente por el consumo de alimentos contaminados de origen animal, principalmente carnes (ave, vacuno y cerdo) y huevo. Estos productos

alimenticios, al ser consumidos crudos o insuficientemente cocidos, originan la enfermedad en humanos (Hald, 2013).

La principal fuente alimenticia asociada a la salmonelosis humana corresponde a los alimentos de origen avícola, especialmente los huevos y sus productos derivados, siendo *S. enterica* ser. Enteritidis el serotipo más frecuentemente asociado con la infección de éstos (Martelli y Davies, 2012).

Sin embargo, durante los últimos años se ha incrementado el interés sobre el rol que juegan las aves silvestres como vectores de agentes patógenos zoonóticos que pueden ser transmitidos a los seres humanos. Especial relevancia cobran las especies migratorias debido a su capacidad de recorrer grandes distancias, contaminando pastizales y fuentes de agua alrededor del mundo (Tsiodras *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2010). Actualmente se ha observado un incremento en la población de gaviotas, las cuales han sobrepoblado los centros urbanos en busca de alimentos, principalmente alrededor de vertederos y sitios de descarga de aguas residuales, por lo tanto, producto de la contaminación fecal de estos lugares, las gaviotas pueden adquirir la infección por *Salmonella*. Estas aves son relativamente resistentes a la enfermedad, pero son portadoras de la bacteria y, por lo tanto, representan una potencial fuente de infección para seres humanos y animales de granja (Tizard, 2004; Ramos *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2012a).

Generalmente los seres humanos al adquirir la infección sólo presentan una gastroenteritis aguda, que se manifiesta 18-48 horas después de la ingestión de la bacteria y se caracteriza por la presencia de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. Usualmente, en individuos sanos, la infección es autolimitante y los síntomas gastrointestinales evolucionan satisfactoriamente al cabo de dos a cinco días, sin necesidad de requerir tratamiento antimicrobiano. Sin embargo, ocasionalmente, pueden presentarse cuadros más graves en que la bacteria invade el torrente sanguíneo, ocasionando cuadros sistémicos que pueden llegar a comprometer otros órganos y producir lesiones localizadas, tales como meningitis, endocarditis, neumonía y osteomielitis, situación en la cual el uso de antimicrobianos constituye una herramienta terapéutica importante (Hald, 2013; Percival y Williams, 2014).

## **Epidemiología**

Durante el siglo XIX y comienzos del siglo XX, en varios países del mundo, las infecciones por *Salmonella* eran provocadas principalmente por *S. enterica* ser. Typhi, que corresponde al agente causal de la fiebre tifoidea. Sin embargo, con el transcurso de los años se produjo un descenso importante de la incidencia de este serotipo en los países industrializados, debido a las mejoras en la higiene y sanitización, ya que esta enfermedad se asocia principalmente a deficiencias de saneamiento ambiental (Sánchez *et al.*, 2011).

Esta misma situación se replica en Chile, ya que según reportes de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud, *S. enterica* ser. Typhi era el serotipo más frecuentemente identificado por el Laboratorio de Referencia hasta el año 1993. Sin embargo, a partir del año 1994 se produce un descenso abrupto en la incidencia de este serotipo, principalmente debido a que el aumento de la cobertura de agua potable y la aplicación de medidas básicas de higiene, provocaron un bloqueo de la transmisión de este patógeno, impidiendo la contaminación de los alimentos. Es así como comienza a emerger *S. enterica* ser. Enteritidis asociado fundamentalmente al crecimiento de la industria avícola nacional, donde los animales son sometidos a condiciones productivas que facilitan la diseminación de este patógeno y la contaminación e infección de un gran número de aves (Fica *et al.*, 2001; Instituto de Salud Pública, 2012).

## **Resistencia a agentes antimicrobianos**

La resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos es un problema multifactorial, con implicancias microbiológicas, terapéuticas, epidemiológicas y de salud pública. Su principal consecuencia consiste en los fracasos del tratamiento antimicrobiano, debido a que las opciones terapéuticas para bacterias resistentes son menores y, en ocasiones, menos eficaces (Martínez y Calvo, 2010). Esta situación provoca que las enfermedades sean más graves y tengan una mayor duración, además de ocasionar aumentos en las tasas de hospitalización y en el número de muertes, lo que conlleva un alto costo para la sociedad (WHO, 2011).

Se reconoce que los antimicrobianos son indispensables para el control de infecciones bacterianas, tanto en medicina humana como veterinaria, sin embargo, una consecuencia

ineludible de la utilización de estos, corresponde a la selección de poblaciones bacterianas naturalmente resistentes o que han adquirido genes involucrados con la resistencia a dichos agentes (Martínez y Calvo, 2010; Butaye *et al.*, 2014).

La resistencia a antimicrobianos representa un importante problema de inocuidad alimentaria, puesto que en animales destinados a consumo los antibióticos no sólo son utilizados para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, sino que también como medida profiláctica y como promotores del crecimiento. Por lo tanto, el excesivo uso de estos fármacos en animales productivos, promueve la selección de bacterias resistentes y la propagación de genes implicados en dicha resistencia hacia los seres humanos a través de la cadena alimentaria (WHO, 2011).

Las bacterias resistentes a agentes antimicrobianos tienen la capacidad de transmitir genes de resistencia mediante transferencia horizontal y, de esta manera, contribuir a la diseminación de estos genes entre poblaciones bacterianas (Butaye *et al.*, 2014). La diseminación horizontal de genes de resistencia se produce a través de elementos genéticos móviles o movilizables, tales como plásmidos, transposones e integrones (De Toro *et al.*, 2014). La transferencia horizontal de estos elementos entre diferentes bacterias puede ocurrir por conjugación, transformación o transducción, que corresponden a los procesos básicos de transferencia de genes entre bacterias, permitiendo la adquisición de múltiples secuencias por la bacteria receptora (Glenn *et al.*, 2013).

Las bacterias poseen diversos mecanismos de resistencia a agentes antimicrobianos, tales como la producción de enzimas que inactivan estos agentes, disminución de la permeabilidad celular de la bacteria hacia los antibióticos a través de la expresión de bombas de eflujo o porinas, y la modificación de la molécula blanco del antimicrobiano (Sefton, 2002).

Durante los últimos años, se ha estudiado la resistencia antimicrobiana en varios serotipos de *S. enterica* realizando pruebas de susceptibilidad antimicrobiana frente a una serie de antibióticos de importancia clínica. Además, se han realizado estudios genotípicos con la finalidad de detectar genes asociados a la resistencia antimicrobiana en cepas aisladas desde seres humanos y animales.

Zou *et al.* (2012) realizaron una investigación en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas de seres humanos, en la que determinaron la susceptibilidad antimicrobiana de doce antibióticos (amikacina, gentamicina, estreptomicina, kanamicina, amoxicilina/ácido clavulánico, ceftriazona, cefalotina, ampicilina, ciprofloxacino, trimetoprim/sulfametoxazol, cloranfenicol y tetraciclina). Los resultados mostraron que la mayoría de las cepas analizadas (n=409; 96,2%) eran susceptibles a todos los antibióticos, y sólo unas pocas cepas mostraron resistencia a alguno de ellos, siendo la ampicilina el antimicrobiano que mostró la más alta frecuencia de resistencia (2,35%), seguida por la estreptomicina (2,17%) y cefalotina (1,4%). Además, sólo se detectaron siete cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR), es decir, que mostraban resistencia a tres o más categorías de antimicrobianos. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios, donde se postula que el serotipo Enteritidis exhibe una baja frecuencia de resistencia a antimicrobianos, en comparación al serotipo Typhimurium, que a menudo se relaciona con fenotipos de multiresistencia (De Toro *et al.*, 2014).

En ese mismo estudio se realizó la caracterización molecular de los determinantes de resistencia antimicrobiana utilizando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), con la finalidad de determinar los genes responsables de codificar resistencia a los diferentes antimicrobianos. Se identificaron once genes: *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>PSE</sub>* ( $\beta$ -lactámicos de espectro extendido); *tet(A)*, *tet(B)* y *tet(G)* (tetraciclina); *aadA1/A2* y *strA/B* (aminoglicósidos); *cml* (cloranfenicol); *aphAI* (kanamicina); *sul1* y *sul2* (trimetoprim/sulfametoxazol). Estos autores determinaron que la resistencia a aminoglicósidos fue predominantemente codificada por el gen *strA/B* (75%), mientras que la resistencia a la tetraciclina fue codificada mayoritariamente por el gen *tet(A)* (60%). Todas las cepas resistentes a la ampicilina portaban el gen *bla<sub>TEM</sub>*, lo cual coincide con datos publicados que describen que la resistencia bacteriana a  $\beta$ -lactámicos se debe principalmente a la producción de la enzima TEM (Hur *et al.*, 2011). Además, en este estudio una sola cepa resistente resultó positiva para la presencia de integrones clase 1, lo que concuerda con otros autores que plantean que estos elementos genéticos no se encuentran muy difundidos en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis, a diferencia del serotipo Typhimurium, los cuales cumplen un importante rol en la diseminación de resistencia antimicrobiana.

Por otro lado, Hur *et al.* (2011), realizaron un estudio en 46 cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves de corral, donde evaluaron la susceptibilidad antimicrobiana de 21 agentes, con el objetivo de determinar la base genética que codifica los fenotipos observados en este estudio. Los resultados mostraron que todas las cepas fueron resistentes a al menos un agente antimicrobiano, con el 65,2% de las cepas resistentes a tres o más antimicrobianos. Se determinó que las cepas fueron resistentes principalmente a sulfisoxazol (97,8%), ácido nalidíxico (87%), penicilinas (52,2%), estreptomicina (52,2%) y tetraciclina (27,7%). Luego, mediante la técnica de PCR se evaluaron 14 genes de resistencia antimicrobiana (*bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *sul1*, *sul2*, *sul3*, *strA*, *strB*, *aadA2*, *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(G)*, *qnrA*, *qnrB* y *qnrS*), los cuales confieren resistencia a cinco categorías de antimicrobianos, incluyendo penicilinas, sulfonamidas, aminoglicósidos, tetraciclinas y quinolonas. Los resultados mostraron que 19/23 cepas resistentes a la penicilina portaban el gen *bla<sub>TEM</sub>*, 37/45 de las cepas resistentes a sulfisoxazol portaban el gen *sul2*, mientras que 23/24 cepas resistentes a la estreptomicina portaban los genes *strA* y *strB*, además todas las cepas resistentes a la tetraciclina portaban el gen *tet(A)*.

Además se han realizado estudios para determinar resistencia antimicrobiana en aves silvestres, como es el caso de la investigación de Dolejská *et al.* (2009), donde se detectó resistencia en cepas de *Salmonella* aisladas desde fuentes de agua y heces de gaviotas. Los resultados de este estudio mostraron que de un total de 87 muestras tomadas de estanques de agua, el 16% fue positivo a *Salmonella*, siendo *S. enterica* ser. Enteritidis el serotipo más prevalente, el cual fue detectado en el 50% de las muestras positivas a *Salmonella*. En las muestras fecales de 216 gaviotas, el 24% portaba *Salmonella*, siendo el serotipo Enteritidis el más prevalente. Además, las muestras fueron sometidas a una prueba de susceptibilidad antimicrobiana frente a un panel de 12 antibióticos, donde se detectó resistencia a uno o más antibióticos en 14% y 29% de las cepas aisladas desde estanques de aguas y heces de gaviotas, respectivamente. Finalmente, mediante la técnica de PCR se identificaron tres genes asociados con resistencia antimicrobiana, *bla<sub>TEM</sub>*, *strA* y *tet(A)*, detectando resistencia a ampicilina, estreptomicina y tetraciclina, respectivamente.

Estos resultados revelan la importancia de monitorear resistencia antimicrobiana en especies animales destinadas a consumo, sobre todo resistencia a fluoroquinolonas y

cefalosporinas de tercera generación, ya que son los fármacos de elección para el tratamiento empírico de las infecciones humanas por *Salmonella* (De Toro *et al.*, 2014). Por otro lado, en la actualidad ha crecido el interés por realizar estudios en aves silvestres para detectar resistencia antimicrobiana, sobre todo en gaviotas, debido a su rol como posibles reservorios de genes asociados a dicha resistencia.

En el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET), de la Universidad de Chile, se realizó un estudio (Lillo, 2014) que tenía como objetivo detectar fenotipos de resistencia en un total de 111 cepas de *S. enterica*, aisladas desde aves silvestres (49 cepas), aves comerciales (30 cepas) y seres humanos (32 cepas). Los antimicrobianos evaluados fueron enrofloxacino, amoxicilina + ácido clavulánico, cefotaxima, gentamicina, tetraciclina, sulfametoxazol + trimetoprim, ceftiofur, cefradina, ampicilina y cefadroxilo. Los resultados de este estudio arrojaron que del total de cepas analizadas, se obtuvieron 43 cepas susceptibles (39%) y 68 cepas resistentes (61%) a al menos un agente antimicrobiano. Las cepas aisladas desde aves silvestres presentaron un mayor porcentaje de resistencia (86%), seguida por las aves comerciales (53%) y, finalmente, los seres humanos (31%).

Los valores relativos de cepas resistentes a antimicrobianos en aves silvestres, aves comerciales y humanos se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores relativos de cepas resistentes a antimicrobianos según hospederos.

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

En base a la mencionada evidencia fenotípica de resistencia antimicrobiana, esta Memoria de Título tiene por objetivo comparar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de estas cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos en Chile, y determinar su relación con el hospedero de origen de estas cepas.

## **HIPÓTESIS**

Los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis tienen una presentación variable según el hospedero de origen.

## **OBJETIVO GENERAL**

Comparar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos en Chile y determinar su relación con el hospedero de origen de estas cepas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas de aves silvestres, aves comerciales y seres humanos.
2. Comparar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana entre hospederos de origen de las cepas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

En esta Memoria de Título se analizó un total de 96 cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres (33 cepas), aves comerciales (31 cepas) y seres humanos (32 cepas), las que se encuentran disponibles en el cepario del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de FAVET, Universidad de Chile. Las cepas evaluadas en este estudio, especie de origen y perfiles fenotípicos de resistencia a antimicrobianos detectados por Lillo (2014), se encuentran disponibles en Anexos, Tabla 2.

### Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Se seleccionaron genes que codifican resistencia a tetraciclina (*tet(A)*, *tet(B)* y *tet(G)*), amoxicilina + ácido clavulánico y ampicilina (*bla<sub>PSE-1</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>CMY</sub>*), ceftiofur (*bla<sub>CMY</sub>*), gentamicina (*aadB* y *aacC*), además se detectó la presencia de integrones clase 1. Como controles positivos se utilizaron cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis facilitadas por el ISP, cuyos perfiles de resistencia fueron previamente determinados por esta institución. Como controles negativos se utilizaron mezclas de reacción sin templado. Los genes evaluados en este estudio y sus respectivos partidores se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3: Genes asociados a resistencia antimicrobiana y características de los partidores utilizados para su detección.

Gen	PCR	Secuencia 5'-3'	Producto (pb)	Tm (°C)	Resistencia*	Referencia
<i>tet(A)</i>	D	gctacatcctgcttgccctc	210	56.2	TET	Ng <i>et al.</i> , 1999
	R	catagatcggcgtgaagagg		55.1		
<i>tet(B)</i>	D	ttggttagggcaagttttg	659	53.5	TET	Ng <i>et al.</i> , 1999
	R	gtaatggccaataacaccg		53.9		
<i>tet(G)</i>	D	gctcgggtgatctctgctc	468	57.3	TET	Ng <i>et al.</i> , 1999
	R	agcaacagaatcgggaacac		55.5		
<i>bla<sub>PSE-1</sub></i>	D	ttggttccgcgctatctg	131	55.5	AMC/AMP	Carlson <i>et al.</i> , 1999
	R	tactccgagcaccaaatccg		57.0		
<i>bla<sub>TEM</sub></i>	D	gcacgagtgggttacatcga	290	57.2	AMC/AMP	Carlson <i>et al.</i> , 1999
	R	ggtcctccgatcgttgcag		57.5		
<i>bla<sub>CMY</sub></i>	D	gacagcctctcttctccaca	1000	56.4	AMC/AMP	Randall <i>et al.</i> , 2004
	R	tggaacgaaggctacgta		52.9		
<i>aadB</i>	D	gagcgaaatctgccgctctgg	319	60.8	CN	Randall <i>et al.</i> , 2004
	R	ctgttacaacggactggcgcg		61.0		
<i>aacC</i>	D	ggcgcgataacgaatttatccga	489	59.7	CN	Lynne <i>et al.</i> , 2008
	R	ccattcgatgccgaaggaaacgat		59.7		
Integrón	D	ggcatccaagcagcaagc	1000-1200	57.7	Integrón	Randall <i>et al.</i> , 2004
	R	aagcagactgacctgat		50.7		

\* TET Tetraciclina, AMC Amoxicilina + Ácido Clavulánico, AMP Ampicilina, EFT Ceftiofur, CN Gentamicina.

Para la detección de los genes asociados con resistencia antimicrobiana se utilizó PCR convencional, según las condiciones de amplificación indicadas en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4: Mix PCR convencional.

Reactivo	Concentración	Volúmenes (µL)
Buffer Taq 10x	1X	1
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	1,35 mM	0,27
dNTPs 10 mM	0,2 mM	0,2
TaqPol platinum	0,25 U	0,05
DNA Templado	10-100 ng	0,5
Partidor 1 10x	500 nM	0,5
Partidor 2 10x	500 nM	0,5
H <sub>2</sub> O	csp	6,98
Volumen final		10

Tabla 5: Condiciones PCR.

T° (°C)	Tiempo	N° ciclos
94	5 min	1
94	30 seg	35
55	30 seg	
72	50 seg	
72	7 min	1

Posteriormente, se procedió a realizar la electroforesis en gel de agarosa al 2% y se utilizó tinción con GelRed® para la visualización de los amplificadores.

### **Análisis de datos**

La presencia de un gen fue registrada con un valor de 1, y su ausencia con un valor de 0. De esta manera, cada cepa tiene un perfil de genes de resistencia antimicrobiana con un número de 10 dígitos.

La presencia de variabilidad en los perfiles de genes de resistencia antimicrobiana entre cepas de distintos hospederos se determinó utilizando el estadístico de  $X^2$  para datos categorizados, mediante el uso de tablas de contingencia en el programa Infostat®.

Para determinar la asociación entre genes de resistencia antimicrobiana y hospedero de origen de las cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis, se utilizó el Test exacto de Fisher como prueba de significación estadística.

### **Bioseguridad**

Durante todo el proceso experimental, se utilizaron guantes y delantal como elementos de protección individual. Las manos y las superficies de trabajo fueron desinfectadas rutinariamente utilizando alcohol 70%. La observación de los geles en transiluminador UV se realizó con uso de filtro UV y lentes de protección UV.

## RESULTADOS

### 1. Determinación de perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana de cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas de aves silvestres, aves comerciales y seres humanos.

En esta Memoria de Título se obtuvo un total de 13 perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana diferentes (Tabla 6 y Figura 1).

Tabla 6: Perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas.

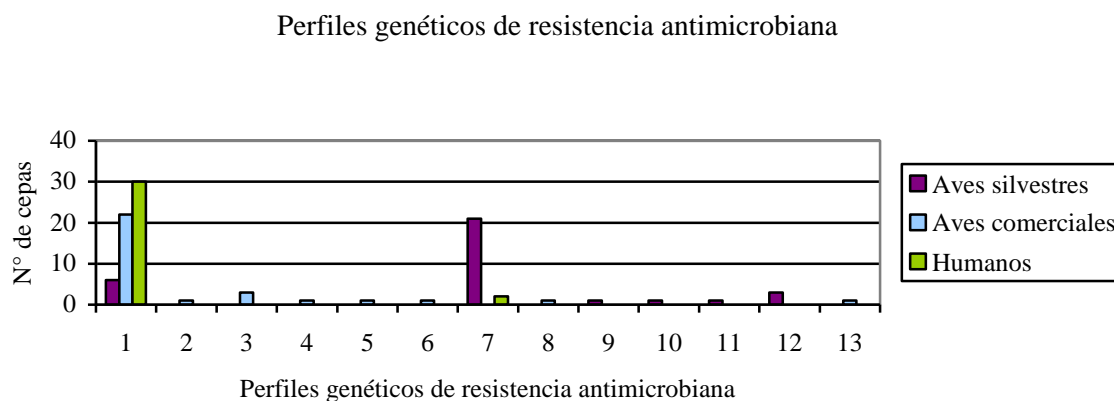
N°	Perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana										Número de cepas por hospedero (%)			
	<i>tet(A)</i>	<i>tet(B)</i>	<i>tet(G)</i>	<i>blaPSE-1</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaCMY</i>	<i>aadB</i>	<i>aacC</i>	Int-1200	Int-700	A.S.*	A.C.*	H.*	Total
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6 (18)	22 (71)	30 (94)	58 (55)
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (0)	3 (10)	0 (0)	3 (3)
4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
5	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21 (64)	0 (0)	2 (6)	23 (24)
8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
9	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
10	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
11	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
12	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3 (9)	0 (0)	0 (0)	3 (3)
13	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
Cepas totales											33	31	32	96

1 = presencia del gen, 0 = ausencia del gen.

Int-1200, Int-700 = Secuencia del integrón de 1.200 pb o 700 pb, respectivamente.

\* A.S. = Aves silvestres; A.C. = Aves comerciales; H. = Humanos.

Figura 1: Gráfico de perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas.



De las 96 cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis analizadas en esta Memoria, se encontraron 13 perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana, de los cuales el número 1 fue el único compartido entre cepas aisladas desde los tres hospederos en estudio. Cabe mencionar que este perfil genético corresponde al que no contiene ningún gen de resistencia antimicrobiana.

Además se determinó que el perfil genético número 7 (cepas que contienen el gen *tet(A)*), está presente en cepas obtenidas de aves silvestres y seres humanos. Sin embargo, la mayoría de los perfiles genéticos sólo fueron hallados en cepas aisladas desde un hospedero, como es el caso de los perfiles número 2 (Int-700 pb), 3 (Int-1200 pb), 4 (*aadB*), 5 (*bla<sub>CMY</sub>* e Int-1200 pb), 6 (*bla<sub>TEM</sub>* e Int-1200 pb), 8 (*tet(A)* e Int-700 pb) y 13 (*tet(A)*, *bla<sub>TEM</sub>* e Int-700 pb), que sólo están presentes en cepas obtenidas de aves comerciales. Mientras que los perfiles genéticos número 9 (*tet(A)* e Int-1200 pb), 10 (*tet(A)* y *aacC*), 11 (*tet(A)*, *aacC* e Int-1200 pb) y 12 (*tet(A)* y *bla<sub>TEM</sub>*), sólo se encontraron en cepas aisladas desde aves silvestres.

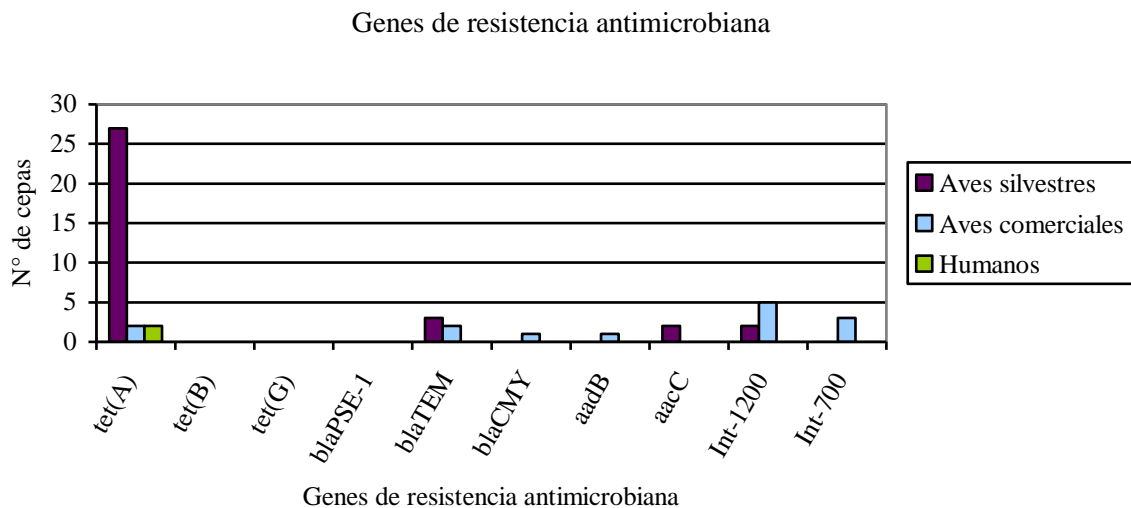
Adicionalmente al estudio de los perfiles genéticos, los datos obtenidos en esta Memoria fueron analizados con la finalidad de determinar la asociación de genes de resistencia antimicrobiana con hospedero de origen de las cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis (Tabla 7 y Figura 2).

Tabla 7: Genes de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas.

Gen de resistencia antimicrobiana	Hospedero			Total (%)
	Aves silvestres (%)	Aves comerciales (%)	Humanos (%)	
<i>tet(A)</i>	27 (82)	2 (6)	2 (6)	31 (32)
<i>tet(B)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>tet(G)</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>bla<sub>PSE-1</sub></i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>bla<sub>TEM</sub></i>	3 (9)	2 (6)	0 (0)	5 (5)
<i>bla<sub>CMY</sub></i>	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
<i>aadB</i>	0 (0)	1 (3)	0 (0)	1 (1)
<i>aacC</i>	2 (6)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Int-1200 pb	2 (6)	5 (16)	0 (0)	7 (7)
Int-700 pb	0 (0)	3 (10)	0 (0)	3 (3)

\* Int-1200 pb, Int 700 pb = Secuencia del integrón de 1.200 pb o 700 pb, respectivamente.

Figura 2: Gráfico de genes de resistencia antimicrobiana y su frecuencia según hospedero de origen de las cepas.



Del total de 96 cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis analizadas, 38 (40%) de ellas fueron positivas a al menos uno de los genes de resistencia antimicrobiana incluidos en este estudio, mientras que en las 58 cepas restantes (60%) no se encontró ningún de resistencia antimicrobiana.



En relación a las 33 cepas aisladas desde aves silvestres, 27 (82%) fueron positivas a al menos uno de los genes de resistencia antimicrobiana. En el caso de las cepas obtenidas de aves comerciales, los resultados mostraron que de un total de 31 cepas, 9 (29%) fueron positivas a al menos uno de los genes de resistencia antimicrobiana. Finalmente, en el caso de las 32 cepas aisladas desde seres humanos, 2 (6%) fueron positivas a al menos uno de los genes de resistencia antimicrobiana incluidos en este estudio (Tabla 8).

Tabla 8: Genes de resistencia antimicrobiana presentes en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y humanos.

Aves silvestres		Aves comerciales		Humanos	
ID	Genes	ID	Genes	ID	Genes
SPP57	<i>tet(A)</i> , I-1200	SE7	<i>tet(A)</i> , I-700	SE28	ND
SPP64	<i>tet(A)</i>	SE89	ND	SE76	<i>tet(A)</i>
SPP52	<i>tet(A)</i>	SE1	<i>aadB</i>	SE32	ND
SPP59	<i>tet(A)</i>	SE6	<i>tet(A)</i> , <i>bla<sub>TEM</sub></i> , I-700	SE67	ND
SPP63	<i>tet(A)</i>	SE84	I-1200	SE71	ND
SPP58	<i>tet(A)</i>	SE5	ND	SE74	ND
SPP60	<i>tet(A)</i>	SE11	ND	SE75	<i>tet(A)</i>
SPP61	<i>tet(A)</i> , <i>aacC</i>	SE35	ND	SE78	ND
SPP65	<i>tet(A)</i>	SE41	ND	SE82	ND
SE21	ND	SE42	ND	SE57	ND
SPP24	ND	SE48	ND	SE24	ND
SPP50	<i>tet(A)</i>	SE86	ND	SE25	ND
SPP51	<i>tet(A)</i>	SE87	ND	SE27	ND
SPP53	<i>tet(A)</i>	SE91	ND	SE30	ND
SPP56	<i>tet(A)</i> , <i>aacC</i> , I-1200	SE92	ND	SE33	ND
SPP74	<i>tet(A)</i>	SE96	ND	SE53	ND
SPP75	<i>tet(A)</i>	SE2	I-700	SE54	ND
SPP76	<i>tet(A)</i>	SE3	<i>bla<sub>TEM</sub></i> , I-1200	SE55	ND
SPP80	<i>tet(A)</i>	SE10	ND	SE65	ND
SPP54	<i>tet(A)</i>	SE12	ND	SE66	ND
SPP62	<i>tet(A)</i>	SE13	ND	SE68	ND
SPP66	<i>tet(A)</i>	SE14	ND	SE69	ND
SPP68	<i>tet(A)</i>	SE34	ND	SE70	ND
SPP70	<i>tet(A)</i>	SE40	ND	SE72	ND
SPP71	ND	SE88	<i>bla<sub>CMY</sub></i> , I-1200	SE73	ND
SPP72	<i>tet(A)</i> , <i>bla<sub>TEM</sub></i>	SE90	I-1200	SE77	ND
SPP73	<i>tet(A)</i>	SE93	ND	SE79	ND
SPP77	<i>tet(A)</i> , <i>bla<sub>TEM</sub></i>	SE94	I-1200	SE80	ND
SPP78	<i>tet(A)</i>	SE95	ND	SE81	ND
SPP79	<i>tet(A)</i> , <i>bla<sub>TEM</sub></i>	SE97	ND	SE56	ND
SE17	ND	SE50	ND	SE58	ND
SPP67	ND			SE59	ND
SPP69	ND				

\* I-1200, I-700 = Secuencia del integrón de 1.200 pb o 700 pb, respectivamente. ND = No detectados.

## 2. Comparación de perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana entre hospederos de origen de las cepas.

Los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana fueron comparados utilizando el estadístico de Chi cuadrado para datos categorizados, mediante el uso de tablas de contingencia en el programa Infostat®.

El análisis estadístico de los perfiles genéticos arrojó un valor de  $p < 0,0001$ , menor al nivel de significancia establecido ( $p > 0,05$ ). Por lo tanto, en Chile, hay cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis que presentan perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana que efectivamente están asociados al hospedero de origen de estas cepas.

Por otro lado, para determinar la asociación entre genes de resistencia antimicrobiana y hospedero de origen de las cepas, se utilizó el Test exacto de Fisher como prueba de significación estadística. Los resultados fueron estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ) sólo para el caso del gen de resistencia *tet(A)* ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 9), el cual resultó estar asociado a cepas obtenidas de aves silvestres. Mientras que en el resto de los genes de resistencia antimicrobiana incluidos en este estudio, no se encontró asociación estadísticamente significativa.

Tabla 9: Genes de resistencia antimicrobiana evaluados y significancia estadística (valor de p).

Gen de resistencia antimicrobiana	Valor de p
<i>tet(A)</i>	< 0,0001
<i>tet(B)</i>	1,0
<i>tet(G)</i>	1,0
<i>bla<sub>PSE-1</sub></i>	1,0
<i>bla<sub>TEM</sub></i>	0,2778
<i>bla<sub>CMY</sub></i>	0,3229
<i>aadB</i>	0,3229
<i>aacC</i>	0,3265
Int-1200 pb	0,0587
Int-700 pb	0,2694

\* Int-1200, Int-700 = Secuencia del integrón de 1.200 pb o 700 pb, respectivamente.

## DISCUSIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) representan un importante problema de salud pública en el mundo. Por un lado, en países subdesarrollados, son la principal causa de enfermedad y muerte, mientras que en países desarrollados producen grandes pérdidas de productividad y altos costos económicos.

Según los últimos reportes publicados por el Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud de Chile (25 de noviembre de 2014), durante el año 2014 se habían notificado 850 brotes de ETA, de los cuales sólo el 7% tenía un agente etiológico identificado, siendo *Salmonella* spp. el agente más frecuente (85,2% del total de las muestras) (Ministerio de Salud, 2014). Además, los datos de vigilancia de *Salmonella* spp. proporcionados por el Instituto de Salud Pública de Chile señalan que durante el periodo comprendido entre enero de 2009 y julio de 2014, se confirmaron 16.214 cepas de *Salmonella* spp. provenientes de aislamientos de origen clínico, observándose un predominio del serotipo Enteritidis (65,3%), seguida del serotipo Typhimurium (12,7%) (Instituto de Salud Pública, 2014). Estos datos concuerdan con los obtenidos en la Unión Europea, donde Enteritidis y Typhimurium son los dos principales serotipos detectados durante el año 2012, con 34.019 y 18.248 casos de salmonelosis reportados, respectivamente (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, 2014). En el caso de Estados Unidos, los datos también indican que el serotipo Enteritidis es el que predominantemente provoca la infección en seres humanos (34%) (Morbidity and Mortality Weekly Report, 2013).

En la actualidad, *Salmonella* spp. no sólo implica una preocupación para la salud pública debido a la cantidad de casos descritos alrededor del mundo, sino que además por la emergencia de cepas resistentes a diversos agentes antimicrobianos, ocasionando fracasos en los tratamientos con antibióticos convencionales. Actualmente los antimicrobianos más utilizados para los casos de salmonelosis son las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación, sin embargo, la aparición de mecanismos de resistencia a dichos antibióticos, limitan las opciones terapéuticas. Se han reportado altos niveles de resistencia para el ácido nalidíxico y ciprofloxacino (18,7% y 9,3% en 2010) en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis de origen humano. La resistencia a ciprofloxacino (fluoroquinolona) es

clínicamente relevante, ya que representa una de las opciones terapéuticas para la salmonelosis severa en pacientes de edad avanzada o inmunocomprometidos (Palomo *et al.*, 2013; De Toro *et al.*, 2014).

A pesar de que la resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis es menos frecuente en comparación con otros serotipos, se ha descrito en varios países, por lo tanto, es importante realizar una vigilancia continua para monitorear la emergencia de cepas resistentes a antimicrobianos (Zou *et al.*, 2012). La mayoría de los aislamientos clínicos del serotipo Enteritidis son susceptibles a varios agentes antimicrobianos y la multirresistencia (resistencia a 3 o más categorías de antimicrobianos) es raramente reportada. Sin embargo, la alta tasa de resistencia y multirresistencia encontrada en algunos estudio realizados en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis, pueden complicar futuras opciones para el tratamiento de infecciones de salmonelosis (Hur *et al.*, 2011).

En base a estos antecedentes, en esta Memoria de Título se estudió la presencia de diversos genes asociados a resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde distintos hospederos, con la finalidad de determinar los perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana y compararlos entre los hospederos de origen de las cepas.

Según los datos proporcionados por este estudio, en Chile, existen diferentes perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos, los que además resultaron estar asociados a algunos de los hospederos de origen de las cepas. En bacterias aisladas desde aves comerciales existen varios perfiles genéticos asociados a su hospedero, lo mismo ocurre en cepas obtenidas de aves silvestres, pero no así en cepas de origen humano (Tabla 6 y Figura 1).

En este estudio no se encontró ningún perfil genético de resistencia antimicrobiana que esté presente tanto en cepas obtenidas de aves comerciales como en cepas de origen humano. Los estudios sobre la resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* mayoritariamente se han enfocado en la interacción que existe entre animales productores de alimentos y seres humanos, debido a la relevancia que tienen en el ámbito de inocuidad de los alimentos, ya que se reconoce que los humanos adquieren este patógeno principalmente a

través de productos alimenticios de origen animal contaminados (Hald, 2013). Por lo tanto, los resultados de este estudio sugieren que a raíz de que existe mayor conocimiento en este tema, es probable que se estén tomando medidas sobre el uso de antimicrobianos en planteles de producción animal, disminuyendo la utilización de estos fármacos, y de esta manera reduciendo la transmisión de bacterias resistentes desde estos animales hacia los seres humanos a través de la cadena alimentaria.

Un hallazgo interesante de esta Memoria es que se encontró un perfil genético de resistencia antimicrobiana que está presente tanto en cepas aisladas desde aves silvestres como en cepas de origen humano, el cual corresponde a bacterias que sólo contienen el gen de resistencia *tet(A)*. Para comprender esta situación es necesario reconocer la relación que existe entre las aves silvestres y los seres humanos. Por un lado, las aves silvestres son vectores de una serie de patógenos zoonóticos, entre ellos *Salmonella*, los que pueden ser transmitidos a los seres humanos, especial relevancia cobran las especies migratorias debido a su capacidad de recorrer grandes distancias, contaminando pastizales y fuentes de agua (Tsiodras *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2010). Además, durante los últimos años se ha observado un incremento en la población de gaviotas, las cuales han ampliado su hábitat más allá de las zonas costeras, sobrepoblando áreas urbanas en busca de alimentos, principalmente alrededor de vertederos y sitios de descarga de aguas residuales, encontrándose en estrecho contacto con los seres humanos. Se ha descrito que las aves silvestres adquieren bacterias resistentes a antibióticos principalmente a través de fuentes de agua contaminadas, por lo tanto, es importante considerar la contaminación ambiental con bacterias que contienen genes de resistencia antimicrobiana, ya que se han aislado bacterias resistentes desde varios ambientes acuáticos, incluyendo agua potable, ríos, aguas residuales y agua marina, lo que genera un gran impacto medio ambiental (Dolejská *et al.*, 2009; Hilbert *et al.*, 2012; Martins Da Costa *et al.*, 2013). Bajo esta premisa, bacterias resistentes de origen humano pueden ser descargadas a fuentes de agua, llegando de esta manera a las aves silvestres, y a su vez estas últimas pueden actuar como reservorios de estos genes y diseminarlos hacia los seres humanos y otros animales.

Respecto a la asociación de genes de resistencia con hospedero de origen de las cepas, los resultados fueron estadísticamente significativos sólo para el gen *tet(A)*, el cual está

asociado a cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres (Tabla 7 y Figura 2). Este resultado es concordante con el estudio sobre fenotipos de resistencia antimicrobiana realizado por Lillo (2014), donde se encontró que el fenotipo de resistencia de tetraciclina está asociado a las aves silvestres como su hospedero de origen.

En primer lugar, de los tres genes de resistencia estudiados para el antimicrobiano tetraciclina (*tet(A)*, *tet(B)* y *tet(G)*), sólo se encontró la presencia del gen *tet(A)* en las cepas analizadas, lo cual concuerda con otros estudios realizados en *S. enterica* ser. Enteritidis, donde la resistencia a tetraciclina fue codificada mayoritariamente por este gen de resistencia antimicrobiana (Hur *et al.*, 2011). De la totalidad de las cepas analizadas (96), el gen *tet(A)* está presente en 31 cepas (32%), de las cuales 27 (87%) corresponden a aves silvestres, mientras que sólo se encontró en 2 cepas (6,5%) aisladas de aves comerciales y en 2 cepas (6,5%) de origen humano.

Respecto a los genes que codifican resistencia a  $\beta$ -lactámicos (*bla<sub>PSE-1</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>CMY</sub>*), el más frecuentemente detectado fue el gen *bla<sub>TEM</sub>*. Estos resultados sugieren que las cepas resistentes a  $\beta$ -lactámicos están asociadas principalmente con la producción de enzimas  $\beta$ -lactamasas del tipo TEM, lo que concuerda con datos obtenidos en estudios previos (Hur *et al.*, 2011; Zou *et al.*, 2012; De Toro *et al.*, 2014). De la totalidad de cepas analizadas en esta memoria (96), el gen *bla<sub>TEM</sub>* está presente en 5 cepas (5%), de las cuales 3 (3%) corresponden a cepas aisladas desde aves silvestres y 2 (2%) corresponden a cepas aisladas desde aves comerciales, mientras que no se encontró presencia de este gen en las cepas de origen humano. El gen *bla<sub>CMY</sub>* está comúnmente asociado con resistencia a ceftiofur en cepas de *Salmonella* spp. (Lynne *et al.*, 2008), sin embargo, en este estudio sólo fue detectado en una de ellas (1%), la cual fue aislada desde aves comerciales. Mientras que el gen *bla<sub>PSE-1</sub>* no fue detectado en ninguna de las cepas incluidas en esta Memoria.

Los genes de resistencia a gentamicina, *aadB* y *aacC*, han sido reportados previamente en *S. enterica* (Randall *et al.*, 2004; Lynne *et al.*, 2008), sin embargo, en el presente estudio el gen *aadB* sólo fue detectado en una cepa (1%) aislada desde aves comerciales, mientras que el gen *aacC* fue hallado en dos cepas (2%) obtenidas desde aves silvestres. En cepas de origen humano no se encontraron genes de resistencia a gentamicina.

En esta Memoria también se incluyó el estudio de integrones clase 1, que corresponden a estructuras genéticas que tienen la capacidad de capturar elementos móviles denominados casetes genéticos que otorgan resistencia a agentes antimicrobianos. Los integrones se clasifican en clases de acuerdo a la secuencia de la integrasa, siendo los de clase 1 los más frecuentemente detectados en *Salmonella*. Estos juegan un importante rol en la diseminación de resistencia antimicrobiana y han sido reportados en otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, tanto en humanos como en animales (González *et al.*, 2004; Zou *et al.*, 2012; Hall, 2013; De Toro *et al.*, 2014).

En este trabajo se encontró un total de 10 cepas (10%) positivas para la presencia de integrón clase 1, de las cuales 8 fueron aisladas desde aves comerciales y 2 desde aves silvestres. Puntualmente, respecto a la presencia de integrones en bacterias aisladas desde animales de producción, en Chile, se había reportado su ausencia en cepas de *Salmonella* spp. obtenidas de aves (Lapierre, 2007; León, 2007), sin embargo, estos resultados difieren con los hallados en esta Memoria. En el caso de las cepas de origen humano, no se reportó la presencia de integrones clase 1, a diferencia de los resultados obtenidos por otros autores en aislados de *S. enterica*, donde se ha detectado la presencia de estos elementos genéticos en cepas aisladas desde este hospedero (Randall *et al.*, 2004; Zou *et al.*, 2012; De Toro *et al.*, 2014). Respecto a la presencia de integrones en cepas bacterianas obtenidas de aves silvestres, existe muy poca información disponible. Un estudio realizado por Dolejská *et al.* (2009) detectó su presencia en cepas de *E. coli* aisladas desde gaviotas, lo que evidencia la necesidad de realizar más estudios que determinen su presencia en otros patógenos de importancia, como es el caso de *S. enterica*, aislados desde animales silvestres.

Otro aspecto interesante de esta Memoria es que se detectaron integrones clase 1 con secuencias de 1.200 pb y 700 pb. En relación a los poseen una región variable de 1.200 pb, se sugiere que podría tratarse de un integrón encontrado frecuentemente en serotipos de *S. enterica*, que contiene el casete genético *bla<sub>PSE-1</sub>* de ese tamaño molecular, el cual otorga resistencia a ampicilina, sin embargo, se requiere realizar más estudios para aseverar esta hipótesis. Este integrón forma parte de una región de la Isla Genómica de *Salmonella* (SGII), denominada región MDR, la que contiene los genes de resistencia *floR* (resistencia a cloranfenicol) y *tet(G)* (resistencia a tetraciclina), situados entre dos integrones clase 1,

denominados InC e InD. El integrón InC contiene el casete genético *aadA2* de 1.000 pb (resistencia a estreptomicina y espectinomicina), mientras que InD corresponde al integrón que porta el casete genético *bla<sub>PSE-1</sub>* de 1.200 pb (resistencia a ampicilina) (Ng *et al.*, 1999; Hur *et al.*, 2012).

En el caso de los integrones clase 1 que presentan una región variable de 700 pb, cabe mencionar que recientemente en Europa se ha descrito un plásmido presente en *S. enterica* ser. Enteritidis de origen humano, denominado pUO-SeVR1, que justamente contiene un integrón clase 1 de 700 pb con el casete genético *dfrA7*, el cual otorga resistencia a trimetoprim (Rodríguez *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2012b). Por lo tanto, se sugiere que en este trabajo posiblemente se esté en presencia de este integrón, sin embargo, se necesitan más estudios para aseverar este supuesto.

Finalmente cabe mencionar que no existe una buena concordancia entre la presencia de genes de resistencia antimicrobiana y los fenotipos de resistencia determinados en el estudio de Lillo (2014), puesto que hay cepas que son resistentes a nivel fenotípico y sin embargo no se detectó la presencia de genes que se asociaran a dicha resistencia. Esto sugiere que esas resistencias observadas fenotípicamente, sean codificadas por genes que no fueron incluidos en el presente estudio.

Esta Memoria de Título proporciona antecedentes sobre la importancia de estudiar el rol que tienen los diversos hospederos en la diseminación de bacterias que contienen genes de resistencia a agentes antimicrobianos.

Por un lado, las cepas aisladas desde seres humanos son las que presentan la menor cantidad de genes de resistencia a antimicrobianos, lo que podría asociarse a que probablemente existe una mayor regulación de la utilización de estos fármacos en la medicina humana, en comparación a lo que ocurre en el caso de la medicina veterinaria. En animales destinados a producción, los antimicrobianos son administrados en dosis sub-terapéuticas con el fin de prevenir enfermedades. Además estos fármacos usualmente son utilizados en animales destinados a consumo con la finalidad de mejorar su crecimiento y la eficiencia alimenticia (promotores del crecimiento). Ambas prácticas proporcionan



condiciones favorables para la selección de bacterias resistentes a antimicrobianos en las explotaciones animales.

Por otro lado, a pesar de que las aves silvestres no tienen exposición evidente a los agentes antimicrobianos, los resultados de esta Memoria plantean que las cepas aisladas desde estos hospederos son las que precisamente contienen la mayor cantidad de genes de resistencia a dichos medicamentos, y además proporciona evidencia sobre los efectos colaterales que puede provocar la sobreutilización de antibióticos en el medio ambiente, impactando indirectamente en la fauna silvestre.

Estos antecedentes dejan en evidencia la importancia de implementar un programa nacional de monitoreo y vigilancia de resistencia antimicrobiana en patógenos animales de importancia para la salud pública, como es el caso de *Salmonella*, que proporcione información actualizada de la situación chilena de la resistencia a antibióticos. Este programa debiera ser integral y considerar las interconexiones existentes entre los distintos hospederos, reconociendo el vínculo que existe entre la salud humana y animal, con la finalidad de adoptar estrategias eficaces orientadas a prevenir la emergencia y diseminación de bacterias resistentes a agentes antimicrobianos.

## CONCLUSIONES

1. Existen diferentes perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres, aves comerciales y seres humanos en Chile.
2. Existen perfiles genéticos de resistencia antimicrobiana asociados a hospederos en cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis.
3. El gen de resistencia antimicrobiana *tet(A)* está asociado a cepas de *S. enterica* ser. Enteritidis aisladas desde aves silvestres.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**BUTAYE, P.; VAN DUIJKEREN, E.; PRESCOTT, J.; SCHWARZ, S.** 2014. Antimicrobial resistance in bacteria from animals and the environment. *Vet Microbiol.* 171: 269-272.

**CARLSON, S.; BOLTON, L.; BRIGGS, C.; HURD, H.; SHARMA, V.; FEDORKA, P.; JONES, B.** 1999. Detection of multiresistant *Salmonella typhimurium* DT104 using multiplex and fluorogenic PCR. *Mol Cell Probes.* 13: 213-222.

**DE TORO, M.; SERAL, C.; ROJO, B.; TORRES, C.; CASTILLO, F.; SÁENZ, Y.** 2014. Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de *Salmonella enterica*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 32 (1): 4-10.

**DOLEJSKÁ, M.; BIEROSOVÁ, B.; KOHOUTOVÁ, L.; LITERÁK, I.; CÍZEK, 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: 1941-1950.

**ETHELBERG, S.; MØLBAK, K.** 2014. *Salmonella* Non-Typhi. **In:** Encyclopedia of Food Safety. Motarjemi, Y.; Moy, G.; Todd, E. (eds.). Elsevier. Søborg, Dinamarca. pp. 501-513.

**EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY AND EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL.** 2014. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. 12 (3): [en línea] <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3590.pdf>> [consulta: 22-10-2014].

**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.

**GLENN, L.; LINDSEY, R.; FOLSTER, J.; PECIC, G.; BOERLIN, P.; GILMOUR, M.; HARBOTTLE, H.; ZHAO, S.; MCDERMOTT, P.; FEDORKA, P.; FRYE, J.**

2013. Antimicrobial Resistance Genes in Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Isolated from Animals, Retail Meats, and Humans in the United States and Canada. *Microb Drug Resist.* 19 (3): 175-184.

**GONZÁLEZ, G.; MELLA, S.; ZEMELMAN, R.; BELLO, H.; DOMÍNGUEZ, M.** 2004. Integrones y cassettes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antimicrobianos. *Rev Med Chile.* 132: 619-626.

**HALD, T.** 2013. Pathogen Updates: *Salmonella*. **In:** *Foodborne Infections and Intoxications.* 4<sup>a</sup> ed. Morris, G.; Potter, M. (eds.). Elsevier. Kongens Lyngby, Dinamarca. pp. 67-97.

**HALL, R.** 2013. Integrons. **In:** *Brenner's Encyclopedia of Genetics.* 2<sup>a</sup> ed. Elsevier. Sydney, Australia. pp. 107-109.

**HILBERT, F.; SMULDERS, F.; CHOPRA-DEWASTHALY, R.; PAULSEN, P.** 2012. *Salmonella* in the wildlife-human interface. *Food Res Int.* 45 (2): 603-608.

**HUR, J.; HEE, J.; HO, J.; LEE, Y.; HWA, J.** 2011. Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant *Salmonella* Enteritidis strains isolated from poultry. *Vet J.* 189: 306-311.

**HUR, J.; JAWALE, CH.; HWA, J.** 2012. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Res Int.* 45: 819-830.

**INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2012. Boletín Laboratorio y Vigilancia al Día. [en línea] <<http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2012/06/BOLETIN%2015.pdf>> [consulta: 10-04-2014].

**INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2014. Boletín Vigilancia de Laboratorio *Salmonella* spp. 2009-2014. 4 (10) [en línea] <[http://www.ispch.cl/sites/default/files/Boletin%20Salmonella%202009-2014%20\(23-10-2014\)%20.pdf](http://www.ispch.cl/sites/default/files/Boletin%20Salmonella%202009-2014%20(23-10-2014)%20.pdf)> [consulta: 04-12-2014].

**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. 102 p.

**LEÓN, L.** 2007. Estudio de integrones clase 1 y 2 de enterobacterias aisladas desde aves y cerdos faenados en la Región Metropolitana de Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 54 p.

**LILLO, P.** 2014. Resistencia a antibióticos en cepas de *Salmonella enterica* y su asociación con distintos hospederos en Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 32 p.

**LYNNE, A.; RHODES, B.; BLIVEN, K.; ZHAO, SH.; FOLEY, S.** 2008. Antimicrobial resistance genes associated with *Salmonella enterica* serovar Newport isolates from foods animals. Antimicrob Agents CH. 52 (1): 353-356.

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

**MARTÍNEZ, L.; CALVO, J.** 2010. Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. Enferm Infecc Microbiol Clin. 28 (4): 4-9.

**MARTINS DA COSTA, P.; LOUREIRO, L.; MATOS, A.** 2013. Transfer of Multidrug-Resistant Bacteria Between Intermingled Ecological Niches: The Interface Between Humans, Animals and the Environment. Int J Environ Res Public Health. 10: 278-294.

**MINISTERIO DE SALUD.** 2014. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). [en línea] <[http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Entericas/Informe\\_Entericas\\_SE472014.pdf#page=4](http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Entericas/Informe_Entericas_SE472014.pdf#page=4)> [consulta: 01-12-2014].

**MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT.** 2013. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks – United States, 2009-2010. 62 (3): 42-59. [en línea] <<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm6203.pdf>> [consulta: 12-11-2014].

**NG, L.; MULVEY, M.; MARTIN, I.; PETERS, G.; JOHNSON, W.** 1999. Genetic Characterization of Antimicrobial Resistance in Canadian Isolates of *Salmonella* Serovar Typhimurium DT104. *Antimicrob Agents CH.* 43 (12): 3018-3021.

**OIE.** 2008. Salmonellosis. OIE Terrestrial Manual 2008. Chapter 2.9.9.: 1267-1283.

**PALOMO, G.; CAMPOS, M.; UGARTE, M.; PORRERO, M.; ALONSO, J.; BORGE, C.; VADILLO, S.; DOMÍNGUEZ, L.; QUESADA, A.; PÍRIZ, S.** 2013. Dissemination of Antimicrobial-Resistant Clones of *Salmonella enterica* Among Domestic Animals, Wild Animals, and Humans. *Foodborne Pathog and Dis.* 10 (2): 171-176.

**PERCIVAL, S.; WILLIAMS, D.** 2014. *Salmonella*. **In:** *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks.* 2<sup>a</sup> ed. Elsevier. Oxford, UK. pp. 209-222.

**RAMOS, R.; CERDA, M.; RAMÍREZ, F.; JOVER, L.; RUIZ, X.** 2010. Influence of Refuse Sites on the Prevalence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* Serovars in Seagulls. *Appl Environ Microbiol.* 3052-3056.

**RANDALL, L.; COOLES, S.; OSBORN, M.; PIDDOCK, L.; WOODWARD, M.** 2004. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 53 (2): 208-216.

**RODRÍGUEZ, I.; GUERRA, B.; MENDOZA, M.; RODICIO, R.** 2011. pUO-SeVR1 is an emergent virulence-resistance complex plasmid of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *J Antimicrob Chemother.* 66 (1): 218-220.

**RODRÍGUEZ, F.; MORENO, J.; ORTEGA, R.; MATHIEU, C.; GARCÍA, A.; CERDA, F.; GONZÁLEZ, D.** 2012a. Evidence for Kelp Gulls (*Larus dominicanus*) and Franklin's Gulls (*Leucophaeus pipixcan*) as Carriers of *Salmonella* by Real-time Polymerase Chain Reaction. *J. Wildl. Dis.* 48 (4): 1105-1108.

**RODRÍGUEZ, I.; RODICIO, R.; GUERRA, B.; HOPKINS, K.** 2012b. Potential International Spread of Multidrug-Resistant Invasive *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Emerg Infect Dis.* 18 (7): 1173-1176.

**SÁNCHEZ, F.; ABU, M.; GÓMEZ, O.** 2011. *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Med Infect Dis.* 9: 263-277.

**SEFTON, A.** 2002. Mechanisms of antimicrobial resistance: Their clinical relevance in the new millennium. *Drug.* 62: 557-566.

**TIZARD, I.** 2004. Salmonellosis in wild birds. *Sem Avian Exot Pet.* 13 (2): 50-66.

**TSIODRAS, S.; KELESIDIS, T.; KELESIDIS, L.; BAUCHINGER, U.; FALAGAS, M.** 2008. Human infections associated with wild birds. *J Infect.* 53: 83-98.

**WHO.** 2011. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. [en línea] <<http://www.euro.who.int/en/publications/abstracts/tackling-antibiotic-resistance-from-a-food-safety-perspective-in-europe>> [consulta: 15-05-2014].

**ZOU, M.; KEELARA, S.; THAKUR, S.** 2012. Molecular Characterization of *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis Isolates from Humans by Antimicrobial Resistance, Virulence Genes, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Foodborne Pathog and Dis.* 9 (3): 232-238.

## ANEXOS

Tabla 2: Cepas evaluadas, especie de origen y perfiles fenotípicos de resistencia a antimicrobianos detectados por Lillo (2014).

ID*	Serotipo	Especie de Origen	Fenotipo de Resistencia Antimicrobiana**
SPP57	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	ENR, CN, TE, EFT, AMP
SPP64	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CN, TE, STX, AMP, CFR
SPP52	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CTX, CN, TE, CE
SPP59	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	ENR, AMC, TE, AMP
SPP63	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	ENR, TE, STX, CE
SE7	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	ENR, TE, STX
SE89	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	TE, EFT, CE
SPP58	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CN, TE, AMP
SPP60	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, CE, AMP
SPP61	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CN, TE, AMP
SPP65	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, CE, AMP
SE1	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	CTX, EFT
SE6	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	TE, STX
SE84	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	EFT, CFR
SE28	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	STX, CFR
SE76	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	TE, AMP
SE21	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CTX, EFT
SPP24	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	AMC, AMP
SPP50	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	AMC, TE
SPP51	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	CTX, TE
SPP56	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, AMP
SPP74	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, CE
SPP75	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, EFT
SPP76	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, CE
SPP80	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE, EFT
SPP53	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SE5	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	ENR
SE11	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	EFT
SE35	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	AMP
SE41	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	EFT
SE42	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	EFT
SE48	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	EFT
SE86	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	TE
SE87	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	CE
SE91	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	CE
SE92	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	TE
SE96	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	CFR
SE32	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	EFT
SE67	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	CN
SE71	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	CTX
SE74	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	CE
SE75	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	TE
SE78	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	CE
SE82	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	EFT
SE57	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	EFT
SPP54	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE



SPP62	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP66	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP68	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP70	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP71	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP72	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP73	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP77	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP78	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SPP79	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	TE
SE2	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE3	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE10	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE12	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE13	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE14	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE34	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE40	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE88	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE90	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE93	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE94	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE95	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE97	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE50	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves comerciales	Susceptible
SE24	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE25	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE27	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE30	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE33	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE53	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE54	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE55	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE65	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE66	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE68	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE69	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE70	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE72	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE73	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE77	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE79	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE80	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE81	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE56	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE58	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE59	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Humanos	Susceptible
SE17	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	Susceptible
SPP67	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	Susceptible
SPP69	<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	Aves silvestres	Susceptible

\* ID = Identificación de la cepa.

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