



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

**DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE *SALMONELLA* spp EN
MUESTRAS DE HORTALIZAS, SUELO Y AGUA OBTENIDAS
DESDE ZONAS RURALES DE LA REGIÓN METROPOLITANA.**

CESAR STEFAN JARA OLIVERA

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

PROFESOR GUÍA: LISETTE LAPIERRE ACEVEDO
Universidad de Chile

PROYECTO FONIS 204668

SANTIAGO, CHILE
2017



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

**DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE *SALMONELLA* spp EN MUESTRAS DE
HORTALIZAS, SUELO Y AGUA OBTENIDAS DESDE ZONAS RURALES DE LA
REGIÓN METROPOLITANA.**

CESAR STEFAN JARA OLIVERA

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

NOTA FINAL:

FIRMA

PROFESOR GUÍA: LISETTE LAPIERRE

PROFESOR CORRECTOR: PATRICIO RETAMAL

PROFESOR CORRECTOR: PILAR OVIEDO

PROYECTO FONIS 204668

SANTIAGO, CHILE
2017

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DESCRIPCIÓN	PÁGINA
RESUMEN	3
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES.....	21
BIBLIOGRAFÍA	22
ANEXOS	27

RESUMEN

En la actualidad el proporcionar alimentos inocuos es responsabilidad de todos los países, la pérdida de inocuidad de los alimentos afecta la salud de quienes los consumen y son una importante causa de morbilidad y mortalidad de millones de personas en el mundo, quienes enferman al consumir alimentos contaminados. La salmonelosis es la enfermedad transmitida por los alimentos (ETA) que más casos provoca, ya que puede atravesar toda la cadena alimentaria y poseer múltiples reservorios tanto en fuentes típicas como animales silvestres y domésticos, como fuentes no convencionales: efluentes de agua, suelos y vegetales. Por otro lado, los antimicrobianos, son la principal herramienta para tratar las infecciones causadas por las bacterias, sin embargo, su utilización excesiva o errónea en medicina veterinaria y en medicina humana se ha vinculado a la aparición y propagación de bacterias resistentes, que hacen que los tratamientos dejen de ser eficaces, y han transformado a la resistencia a los antimicrobianos en una de las principales amenazas de la salud pública a las que se enfrenta la medicina moderna. El objetivo de este estudio fue aislar cepas de *Salmonella enterica* de muestras de hortalizas, agua y suelo desde seis puntos rurales de la Región Metropolitana, además de caracterizar su serotipo y su susceptibilidad a los antimicrobianos. Se analizaron 1.250 muestras de hortalizas, de las cuales no hubo presencia de *Salmonella* spp., también se analizaron 250 muestras de suelo en donde se logró aislar dos cepas de *Salmonella* correspondiente al serotipo Infantis, siendo una cepa resistente a cloranfenicol, mientras que la segunda cepa fue sensible a todos los antibióticos analizados. También se analizaron 25 muestras de agua y se logró aislar una cepa de *Salmonella* correspondiente al serotipo Muenchen, la cual presentó resistencia a 11 de los 16 antibióticos analizados. Por tanto los serotipos Infantis y Muenchen son potenciales zoonóticos lo cual es un riesgo para la salud pública ya que pueden usar las diferentes fuentes ambientales como vehículos para provocar enfermedad en el ser humano, además de que las cepas bacterianas podrían llegar a presentar resistencia antimicrobiana, cabe señalar que todas las cepas aisladas fueron de la misma comuna, en este caso Melipilla lo que podría representar un foco de contaminación de este patógeno.

Palabras claves: *Salmonella* spp., resistencia antimicrobiana, vegetales, suelo, agua.

ABSTRACT

At present, providing safe food is responsibility of each country, the loss of food safety affects the health of those who consume them and are a major cause of morbidity and mortality of millions of people in the world who gets sick because of consuming contaminated food, Salmonellosis is the most common cause of foodborne illness in the world, as it can cross the entire food chain and have multiple reservoirs in both wild and domestic sources, as well as non-conventional sources such as water effluents, soils and vegetables. Antimicrobials are the main tool to treat infections caused by bacteria, however, their excessive or misuse in veterinary medicine as in human medicine has been linked to the emergence and spread of resistant bacterias, which make the treatments less effective, antimicrobial resistance is one of the major threats to public health that face modern medicine. The objective of this study was to isolate strains of *Salmonella enterica* from six metropolitan region rural points, besides characterizing its serotype and its respective susceptibility to the antimicrobials of the different samples, 1.250 samples of vegetables, which there was not *Salmonella* spp. presence, 250 soil samples where two strains of *Salmonella* corresponding to Infantis serotype were isolated, presenting an extremely low resistance to antimicrobials, being a strain resistant only to chloramphenicol, while the second strain was sensitive to all antibiotics analyzed, 25 samples of water were taken, and a *Salmonella* strain corresponding to the Muenchen serotype was isolated, which showed high resistance to antimicrobials, being resistant to 11 of 16 antibiotics analyzed. Therefore the serotypes Infantis and Muenchen are zoonotic potentials which is a risk for public health since they can use the different environmental sources as vehicles to cause disease in humans, in addition to the bacterial strains could come to present antimicrobial resistance, It should be noted that all isolates were from the same municipality, in this case Melipilla, which could represent a source of contamination of this pathogen.

Keywords: *Salmonella* spp., Antimicrobial resistance, vegetables, soil, water.

INTRODUCCIÓN

En el mundo actual el suministrar alimentos inocuos a la población es una misión fundamental para cada estado y una de las labores de los médicos veterinarios y de todos los profesionales que participan en la inocuidad alimentaria. Dentro de este contexto, uno de los retos es minimizar la exposición a las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). En la lista de agentes patógenos zoonóticos causantes de ETA se encuentra como uno de los agentes más importantes *Salmonella enterica*. El principal reservorio natural de esta bacteria son los animales de granja, como aves, bovinos y cerdos, pudiendo transmitir la infección al ser humano mediante contacto directo o indirecto, este último por los subproductos de la producción animal (carne, huevos, lácteos). Sin embargo, la transmisión de este agente también puede ser por el consumo de frutas y verduras que se consumen crudas, así como sus derivados (jugos, ensaladas, etc.). La contaminación con *Salmonella enterica* en estos productos se podría deber a la contaminación de cursos de agua para el riego de estos alimentos o por la contaminación de los suelos con estos patógenos.

Además, a nivel nacional e internacional, existen muy pocos estudios respecto de la detección de *Salmonella* en fuentes no convencionales como lo son verduras y suelos, lo que hace prácticamente imposible estimar su porcentaje de aparición y/o presencia en estas fuentes poco conocidas, por lo que no se sabe con certeza científica, si son o no un riesgo para la población.

Entre los años 2013 y 2015 se realizó un estudio FONIS liderado por el Instituto de Salud Pública (ISP), en el cual se muestrearon aguas desde cauces de ríos de distintas comunas de la Región Metropolitana identificando en 6 canales la bacteria *Salmonella enterica*, lo que representa un riesgo para la población.

Ante estos antecedentes el objetivo de esta memoria de título es detectar y caracterizar cepas de *Salmonella spp.*, desde muestras de hortalizas, suelos y aguas de diferentes comunas rurales de la Región Metropolitana, escogiéndose los mismos lugares que fueron positivos al aislamiento de *Salmonella* en el proyecto efectuado por el ISP el año 2015.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Si bien el concepto de calidad de los alimentos, con más o menos matices, se define como la capacidad de éstos de satisfacer las necesidades declaradas del consumidor, es el atributo higiénico – sanitario aquel que, por su relación con la salud de las personas, resulta ser de valor básico y absoluto, dado que presupone que un alimento no debe causar daño a quien lo consume (Prieto *et al*, 2008). Este atributo sanitario ha sido denominado como “Inocuidad de Alimentos”, concepto que es definido como la garantía de que los alimentos no causarían daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan (FAO, 2003). Para el logro de este objetivo, toda la cadena alimentaria tiene responsabilidad en la mantención de esta propiedad hasta el momento de su consumo y por tanto todas las políticas y actividades deben orientarse hacia este objetivo (OMS, 2015a). Los alimentos inocuos contribuyen a la salud y desarrollo de las personas, así como al crecimiento y progreso de los países (OMS, 2002).

Por el contrario, la pérdida de inocuidad de los alimentos afecta la salud de quienes los consumen y son una importante causa de morbilidad y mortalidad de millones de personas en el mundo, quienes enferman individual o grupalmente al consumir alimentos contaminados (WHO, 2008).

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que ingresan en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados.

Los patógenos de transmisión alimentaria son causantes de diarrea u otras afecciones que pueden llegar a ser muy severas. Algunas ETAs tienen la facultad de causar discapacidad persistente e incluso muerte. Como ejemplos de alimentos que poseen un riesgo mayor de provocar ETA, se encuentran los alimentos de origen animal no cocinados adecuadamente, las frutas y hortalizas crudas contaminadas con heces y los mariscos crudos (OMS, 2015a).

La incidencia anual de gastroenteritis estimada en el mundo es de 1.500 millones de casos, con una mortalidad anual de 3 millones, especialmente de niños menores de 5 años de edad. Se conoce que un 70 % de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos y/o sus toxinas (Olea *et al*, 2012).

Un trabajo realizado por Alerte *et al*, 2012, en el cual se analizaron 2.434 brotes de ETA ocurridos en la Región Metropolitana, entre los años 2005-2010, reveló los lugares de ocurrencia de estos brotes, con la mayor prevalencia en el hogar (36,2%) seguido por restaurantes (16,3%), supermercados (6,3%), ferias libres (4,4%) y en el 20% no se logró determinar. Las causas más frecuentes de estos brotes fueron la manipulación inadecuada de alimentos, tanto comercial como doméstica y la conservación deficiente de alimentos elaborados. Los agentes etiológicos involucrados en los brotes fueron: *Salmonella* spp. (20,9%), *Shigella* de tipo no especificado (20,4%), *Shigella sonnei* (17,7%) *Vibrio parahaemolyticus* (13,9%), *Listeria* spp., *Staphylococcus* spp, enteritis virales e infección por *Giardia* spp y por *Sarcocystis* spp.

Género *Salmonella*

El género *Salmonella* consta de dos especies, *S. bongori* y *S. enterica* y pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos gramnegativos que no forman esporas y que en este género en particular presentan tres tipos de antígenos: somático O, flagelar H y capsular Vi, cuyas propiedades de aglutinación se emplean para diferenciar a más de 2500 serotipos (CDC, 2017).

Epidemiología

En la actualidad, la salmonelosis producida por *Salmonella enterica* no typhi es una de las zoonosis de mayor prevalencia en países desarrollados, la que es transmitida a la población a través de la contaminación de alimentos de origen animal, principalmente. La propagación de *Salmonella enterica* serotipo Enteritidis y *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium ha aumentado a partir de la segunda mitad del siglo XX, cuando ocurrieron dos cambios mundiales en la epidemiología de la salmonelosis: el surgimiento de

infecciones en humanos por *Salmonella* Enteritidis, y la múltiple resistencia a los antibióticos de cepas de *Salmonella* Typhimurium (Gutiérrez *et al*, 2008).

Los reservorios de *Salmonella* más comúnmente informados incluyen animales domésticos y silvestres de diversos tipos, incluidos porcinos, bovinos, aves silvestres y de corral, roedores, iguanas, tortugas, perros y gatos. En reservorios secundarios, como aguas de pozos, suelo, camas para crianza y carcasas, los microorganismos sobreviven durante períodos muy largos, pero no se multiplican normalmente como en los sistemas digestivos de los animales. Estas bacterias pueden resistir la deshidratación durante un tiempo muy prolongado, tanto en las heces como en los alimentos para consumo humano o animal.

El aumento de la incidencia de *Salmonella* spp., es de gran impacto tanto en salud pública como en salud animal y se ha relacionado con un incremento de la diseminación de los microorganismos a través de las cadenas productivas animales de bovinos, cerdos, pollos y en especial gallinas ponedoras (Uribe y Suárez, 2006). *Salmonella* puede atravesar toda la cadena alimentaria, desde los piensos para animales y la producción primaria, hasta los hogares o los establecimientos e instituciones de servicios de comidas (OMS, 2015b). Las personas contraen la bacteria a través del consumo de alimentos, especialmente de alimentos de origen animal contaminados (principalmente huevos, carne de aves y leche), aunque también otros alimentos como salchichas saladas se han vinculado a la transmisión (Uribe Y Suárez, 2006). En los últimos años, las frutas y las verduras frescas se han relacionado con varios brotes de ETA en diferentes regiones del mundo (Denis *et al*, 2016).

En Chile el ISP (2014), entre los periodos de enero 2009 a julio 2014, confirmó 16.214 cepas de *Salmonella* spp., provenientes de aislamientos de origen clínico. En el año 2011 se confirmó el mayor número de cepas (3.627), lo que representa el 22,4% del total del periodo, el menor número de cepas confirmadas se registró en el año 2013 (2.362), representando el 14,6% del total, mientras que para los años restantes las incidencias fueron las siguientes: año 2009 se registraron 2.078 cepas confirmadas (17% del total), 2010 hubo 2.713 cepas confirmadas (15,9%) y en el año 2012 se registraron 3.076 cepas

(17,7%). Hasta julio del año 2014 se confirmaron 1.558 cepas, a julio del año anterior se confirmaron 1.350 cepas, lo que representa un aumento del 13,3%, con estos datos se puede concluir que a pesar de las variabilidades, se mantiene una tasa constante de ETA por *Salmonella*, además se observó en todo el periodo un aumento del número de cepas confirmadas en los meses de primavera-verano. El 47,2% de las cepas confirmadas de *Salmonella* spp., provenían de la Región Metropolitana, principalmente de establecimientos de salud privados. Esta región registró la tasa de incidencia de casos confirmados por laboratorio más elevadas tanto para *Salmonella* spp como para *Salmonella* Typhi. No se observaron diferencias por sexo para *Salmonella* spp., sin embargo, para *Salmonella* Typhi predominó el sexo masculino (58%). Respecto a la edad de los pacientes que presentaron cultivos positivos a *Salmonella* spp., predominó el grupo etario de 0 a 4 años, en cambio en las cepas de *Salmonella* Typhi predominó el grupo de 25 a 29 años. En el periodo de estudio se observó predominio de *Salmonella* Enteritidis (65,3%) seguida de *Salmonella* Typhimurium (12,7%).

En un análisis realizado por ACHIPIA (2016) sobre números de brotes de ETA durante el año 2015, se informaron 1.086 brotes de ETA a nivel país, donde la región Metropolitana concentró la mayor cantidad de brotes, con un total de 257, y en donde el 76,4% de los aislados clínicos en los que se pudo determinar el agente que produjo el brote, este agente etiológico fue *Salmonella* spp. Esto señala la importancia de este patógeno a nivel nacional. Los brotes de ETA siguen ocurriendo, a pesar de las numerosas investigaciones sobre agentes causantes, como *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp. Esto sumado al reconocimiento de otros agentes zoonóticos emergentes, pone de manifiesto el desafío de diálogo constructivo y colaborativo entre salud pública, salud veterinaria, y expertos en inocuidad (Newell *et al*, 2010).

La necesidad de detectar, investigar y controlar oportunamente los brotes de ETA, obliga a los estados a desarrollar e implementar sistemas que permita su vigilancia. La vigilancia epidemiológica de las ETA, es el conjunto de actividades que permiten reunir información indispensable para conocer la conducta o historia natural de las enfermedades, y prever cambios que puedan ocurrir debido a alteraciones en los factores condicionantes o

determinantes, con el fin de recomendar oportunamente medidas preventivas y de control (OPS, 2001).

Resistencia a los antimicrobianos.

Los antimicrobianos, son esenciales para tratar las infecciones causadas por las bacterias. Sin embargo, su utilización excesiva o errónea en la medicina veterinaria y en la medicina humana se ha vinculado a la aparición y propagación de bacterias resistentes, que hacen que los tratamientos de enfermedades infecciosas en los animales y en el hombre dejen de ser eficaces. La resistencia a los antimicrobianos es una de las principales amenazas de la Salud Pública a las que se enfrenta la medicina moderna (OMS, 2015a).

Cabe destacar que la resistencia bacteriana es un fenómeno complejo en el que influyen factores como el uso y abuso de antimicrobianos y un débil programa de control de infecciones. Según García (2003), la resistencia bacteriana tiene que considerar los factores relacionados al paciente tales como: edad (niño/adulto), procedencia (ambulatorio/hospitalización) y curso clínico de la infección, también debe considerar los factores relacionados al microorganismo como: su grupo (Gram positivo/Gram negativo) y morfología (cocáceas o bacilos) y finalmente los factores relacionados con el fármaco como su vía de administración, espectro del antimicrobiano y duración de la terapia.

Respecto al tratamiento de la salmonelosis, no se utilizan los antimicrobianos de forma rutinaria; sin embargo, en personas de riesgo o con salmonelosis complicadas se recomienda el uso de cefalosporinas como primera elección y fluoroquinolonas como segunda elección.

El ISP estudia la sensibilidad en cepas de origen clínico para los siguientes antibióticos: ampicilina, cefotaxima, ciprofloxacino, cotrimoxazol, ácido nalidíxico. Los resultados de susceptibilidad muestran en general alta sensibilidad a los antimicrobianos de uso clínico, siendo *S. Typhimurium* el serotipo que presenta el menor porcentaje de sensibilidad.

OBJETIVO GENERAL

Detectar cepas de *Salmonella enterica* y caracterizar sus fenotipos de resistencia antimicrobiana, en muestras de aguas superficiales, hortalizas y suelos obtenidas desde áreas rurales de la Región Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar cepas de *Salmonella* en muestras de hortalizas, suelos y agua de zonas rurales de la Región Metropolitana
2. Determinar los perfiles de resistencia a antimicrobianos de las cepas aisladas en las diferentes muestras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta memoria de título se realizó en el marco del proyecto FONIS 204668 “Identificación de factores de riesgo asociados a la contaminación de predios agrícolas con agentes patógenos zoonóticos”, en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos del Instituto de Salud Pública en asociación con el Laboratorio de Inocuidad de los Alimentos, perteneciente al Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (FAVET) de la Universidad de Chile.

Muestreo

El programa de muestreo consideró 6 puntos focales referenciados a cursos de agua superficial, en los que previamente se han aislado cepas de *S. enterica* genéticamente relacionadas a cepas de aislamientos clínicos (**Tabla 1 y Figura 1**). La frecuencia de muestreo de cada sector fue cada 2 meses por un total de 6 meses. En cada oportunidad se obtuvo una muestra de 20 L de agua de curso superficial en el mismo cauce. Además, aguas abajo de este punto, se identificaron predios agrícolas que se encuentren colindantes al cauce en una extensión máxima de 5 km y que potencialmente utilicen sus aguas para regadío, desde los cuales se obtuvieron 50 muestras de hortalizas y 10 muestras de suelos.

Objetivo específico N°1: Identificar cepas de *Salmonella* en muestras de hortalizas, aguas y suelos de zonas rurales de la Región Metropolitana

a) Toma de muestra: todas las muestras fueron extraídas con la utilización de guantes estériles y delantal desechable. Las muestras de agua fueron depositadas en un bidón de polipropileno estéril de 20 L, mientras que las muestras de hortalizas y suelo fueron almacenadas en bolsas estériles y en refrigeración. Todo fue transportado inmediatamente al laboratorio.

b) Cultivo bacteriano.

Muestra de suelo y verduras

La metodología experimental para la detección de *Salmonella* spp., se llevó a cabo según la norma ISO 6579 “Microbiology of food and animal feed- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*”, la cual consistió brevemente en: pesar 10 g de muestra en bolsas estériles Whirl-Pak® en las balanzas del laboratorio de

microbiología de los alimentos del ISP. A esta muestra se le agregó 90 mL de caldo APT (agua peptonada tamponada) Difco® para mantener una proporción de 1:10, se homogenizó durante un minuto en un Stomacher y se incubó en estufa a 37 °C durante 18-24 horas, después de transcurrido este tiempo se tomó con micro-pipeta 100 µL de cada uno de los caldos de pre-enriquecidos y se inocularon 3 gotas en agar semisólido MSR/V (Modificado de agar semisólido Rappaport Vassiliadis, Merck®) con novobiocina (50 µg / ml), y se incuban por 18-24 horas a 41,5° C. Las muestras que presentaron crecimiento sospechoso, el cual consistió en la aparición de una zona turbia en forma de un halo gris-blanco con un borde claramente definido que se extendió hacia fuera de la gota de inoculado, fueron procesadas de la siguiente manera: traspasar con una asa estéril de 10 µL las muestras con crecimiento sospechoso en medio MSR/V a un agar selectivo XLD Merck® (Agar desoxicolato xilosa lisina, Merck®) el cual se incubó por 18-24 horas a 35°C. Luego del tiempo transcurrido se observará la placa para ver si hay crecimiento, las colonias típicas de *Salmonella spp* cultivadas en agar XLD tienen un centro más oscuro (negro), ya que son productoras de ácido sulfhídrico y la zona ligeramente transparente de color rojizo debido al cambio del indicador de pH.

Muestras de Agua

Las muestras de agua se concentraron de forma mecánica por ultrafiltración tangencial, hasta alcanzar un volumen de 400mL, de éstos se tomaron 25mL y se le agregan 225mL de caldo APT (agua peptonada tamponada) Difco® y se incubó a 35 °C durante 18-24 hrs, transcurrido el tiempo de incubación se tomaron 100 µL del pre-enriquecido y se traspasó a agar MSR/V (Modificado de agar semisólido Rappaport Vassiliadis, Merck®) con novobiocina, se incubó por 18-24hrs a 42°C, finalmente con un asa estéril de 10 µL se traspasa a un agar selectivo XLD Merck® (Agar desoxicolato xilosa lisina, Merck®) el cual se incubó por 24 horas a 37°C. Luego del tiempo transcurrido se observó la placa si hay crecimiento de *Salmonella spp*.

Serotipificación de muestras

Si en los dos primeros medios de cultivo (MSRV y XLD), hubo crecimiento sospechoso de *Salmonella* spp., se realizó un screening rápido con API® 20E, siguiendo las instrucciones del fabricante para verificar la presencia de *Salmonella* spp., con ayuda de una base de datos mediante el software Apiweb™. Luego las muestras confirmadas fueron serotipificadas en el Laboratorio de Bacteriología del ISP por metodología de Kauffman-White.

Objetivo específico N°2: Determinar los perfiles de resistencia a antimicrobianos de las cepas aisladas en las diferentes muestras.

El ensayo se realizó mediante Método de Difusión en placa Kirby-Bauer de acuerdo normas recomendadas por Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008).

Antimicrobianos:

Se analizó la susceptibilidad a 16 antimicrobianos (Oxoid®): - Enrofloxacino ENR (5), Amoxicilina + Ácido Clavulánico AMC(30), Gentamicina CN (10), Tetraciclina TE (30), Sulfametoxazol + Trimetoprim STX (25), Ceftiofur EFT (30), Ampicilina AMP (10), Cefadroxilo CFR (30), Cloranfenicol C (30), Amikacina AK (30), Azitromicina AZM (15), Ceftriaxona CRO (30), Ciprofloxacino CIP (5), Kanamicina KAN (30), Ácido Nalidíxico NA (30), Estreptomicina S (10). Estos antimicrobianos se eligieron en base a las recomendaciones señaladas por el CSLI (2008) y National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) (NARMS, 2012) para *Salmonella* spp. Se utilizó como cepa control: *Escherichia coli* ATCC 25922.

Procedimiento:

- a. Preparación de las placas. Se utilizó agar Mueller – Hinton (OXOID®), que se preparó de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el fabricante. Las placas tenían una superficie uniforme y una profundidad de aproximadamente 4 mm.
- b. Preparación de inóculos bacterianos. Las cepas en estudio se sembraron en 2 mL de caldo APT (agua peptonada tamponada) Merck® y se incubaron por 18-24 hrs a 36±1°C. Luego 100 µL de la suspensión bacteriana se inoculó en 5 mL de APT, se

midió la concentración bacteriana en espectrofotómetro (OD600) y se incubó en agitación a 37°C hasta alcanzar una OD600 de 0,25 ($1-5 \times 10^8$ UFC/mL).

- c. Inoculación de placas y aplicación de sensidiscos: Cada suspensión bacteriana, se sembró uniformemente sobre la superficie de una placa de agar Mueller - Hinton usando una tórula de algodón estéril. Una vez inoculadas, las placas se dejaron en reposo por algunos minutos para luego colocar los 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.
- d. Lectura e Interpretación de Resultados: La lectura se realizó midiendo con un pie de metro el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano proyectado desde el sensidisco, interpretándose como Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) usando como pauta los rangos establecidos por el CLSI, (2008) y Parry *et al.*, (2015) (Tabla 2). Las cepas cuyo halo de inhibición resulten intermedio, fueron clasificadas como cepas resistentes para este estudio.

Finalmente, con los datos se construyen perfiles de susceptibilidad para cada cepa bacteriana aislada.

Bioseguridad

S. enterica es clasificada como un agente de riesgo intermedio clase 2, de acuerdo al manual estándar de bioseguridad (2008) generado por CONICYT (2008), el cual sugiere medidas que corresponden al nivel dos 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 desinfectan con alcohol 70% antes y después de trabajar con agentes bacterianos.

- Los guantes y delantal serán los principales elementos de protección individual a utilizar.

RESULTADOS

1.- Prevalencia de *Salmonella* en las distintas muestras analizadas:

A. Muestras de hortalizas

En hortalizas se tomó un total de 1.250 muestras, de las cuales en ninguna se encontró presencia de *Salmonella spp.* . El detalle del lugar de muestreo se presenta en la **Tabla 3**.

B. Muestras de suelos

En suelos se tomaron 250 muestras, pudiendo aislarse dos cepas de *Salmonella* lo que corresponde a una prevalencia del 0,8%. Ambas cepas fueron del serotipo *Salmonella* Infantis. En la **Tabla 4** se detalla el lugar de muestreo y los resultados.

C. Muestras de agua

En agua se tomaron un total de 25 muestras, aislándose una cepa de *Salmonella* lo que significa una prevalencia de 4%, el serotipo fue *Salmonella* Muenchen. La **Tabla 5** se detallan los resultados y lugares de muestreos.

2.- Evaluación de la susceptibilidad a los antimicrobianos en las cepas aisladas:

A. Muestras de suelo

Debido a que el número de cepas aisladas fue bajo, y que ambas corresponden a un mismo serotipo se les asignó un código arbitrario para su diferenciación, siendo la primera cepa *Salmonella* Infantis (SM16-92), la que fue resistente solamente a cloranfenicol **Tabla 6**, mientras que la segunda cepa *Salmonella* Infantis (SM16-97) fue sensible a todos los antibióticos **Tabla 6**.

B. Muestras de agua

La única cepa aislada desde las muestras de agua correspondiente a *Salmonella* Muenchen (SM16-102), presentó multi-resistencia, siendo solo sensible a cinco de los dieciséis antibióticos estudiados. Los antibióticos a los que fue resistente fueron: ampicilina, gentamicina, tetraciclina, sulfa+trimetoprim, cefadroxilo, ceftiour, cloranfenicol, amikacina, ceftriaxona, kanamicina y ácido nalidíxico. Los antibióticos a los que la cepa fue sensible fueron: amoxicilina+ ácido clavulánico, enrofloxacino, ciprofloxacino, azitromicina y estreptomicina **Tabla 6**.

DISCUSIÓN

Los brotes de ETA en Chile, al igual que en otros países, son un importante problema de salud pública y un desafío para el sistema de salud, lo que obliga a mantener una fórmula capaz de reconocer la ocurrencia de este tipo de evento y proceder con su investigación, para así cumplir con el objetivo de evitar nuevos casos y prevenir futuros eventos (Ulloa, 2016).

El Aislamiento de *Salmonella* spp., especialmente de muestras de aguas residuales y vegetales frescos, es motivo de gran preocupación desde el punto de vista de la salud pública, porque estas fuentes pueden servir como un vehículo potencial para la transmisión de *Salmonella* spp., a los animales y a los seres humanos (Campos *et al*, 2013). El género *Salmonella* spp debido a que presenta una alta resistencia a condiciones externas desfavorables, pueden sobrevivir durante mucho tiempo en el suelo y en las hortalizas (Klapecl *et al*, 2016).

Los patógenos que contaminan los vegetales pueden estar presentes naturalmente en el suelo, como *Listeria* spp y *Cl. Perfringens*, o pueden también ser introducidos en fertilizantes orgánicos (*Salmonella*, *E. coli*). Los patógenos pueden colonizar las plantas durante el cultivo (desde el suelo o agua) o durante la cosecha, el procesamiento y el transporte. La capacidad de los patógenos para sobrevivir en el ambiente del suelo depende del tipo de patógeno, el tipo de suelo, la temperatura ambiente, el nivel de humedad, así

como la alta resistencia de algunas bacterias a las condiciones externas (Klapecl *et al*, 2016).

La presencia de *Salmonella* en este estudio fue de un 0,2% en el total muestras analizadas, lo que se corresponde con otros estudios realizados en matrices parecidas. Vojkovská *et al* 2017, analizó 1.797 muestras de frutas y hortalizas pre cortadas y la presencia de *Salmonella* no superó el 0,4%, las muestras fueron tomadas de diferentes supermercados de la República Checa donde la legislación vigente de la Unión Europea (UE), establece ausencia total de este patógeno, igual que la legislación de nuestro país. En el estudio de Vojkovská *et al* 2017, para realizar el aislamiento también se utilizó la norma ISO 6579, con la salvedad de que se pesaron 25 g de muestra. El único serotipo identificado en ese estudio fue *Salmonella* Enteritidis, este serotipo ha sido documentado como el serotipo más frecuentemente encontrado tanto en cepas aisladas de humanos como en cepas aisladas de pollo, en la República Checa (Vojkovská *et al*, 2017). En otro estudio Nair *et al* 2015, encontró 4 cepas de *Salmonella* en 300 muestras de ensaladas (1,3%), las cuales pertenecían a 4 serotipos diferentes y todas provenientes de muestras de ensaladas: una en ensalada mixta, una en lechuga, una en espinaca y una en ensalada de maíz.

Klapecl *et al* 2016, realizaron una investigación, en la cual se llevaron a cabo estudios bacteriológicos sobre cinco tipos de hortalizas frescas (FV) de cuatro granjas convencionales, ubicadas en pueblos cercanos de la provincia de Lublin, Polonia y también sobre muestras de suelo recogidas de la rizosfera de estas hortalizas. Además, se investigaron las verduras vendidas al por menor (VR) en los mercados de Lublin, que también provienen de las granjas convencionales. Se recogieron muestras de lechuga, eneldo y rábano durante la temporada de primavera, mientras que las muestras de remolacha roja y zanahoria durante la temporada de otoño. Se examinó un total de 35 muestras de hortalizas provenientes desde las granjas, 35 muestras de tierra recogidas bajo hortalizas (rizosfera), 35 muestras de hortalizas desde mercados. Los resultados para todas las muestras de hortalizas y suelo examinadas fueron negativas para la presencia de *Salmonella* spp.

En un estudio realizado por Martínez *et al*, 2016 en Chile, con el fin de caracterizar la presencia de *S. enterica* en cursos de agua superficial, se obtuvieron muestras de 40 fuentes (100 muestras en total), incluyendo ríos y canales de riego utilizados por predios agrícolas de comunas de la Región Metropolitana. En este estudio se aislaron 35 cepas de 19 sitios de muestreo, principalmente del sector suroeste de la Región Metropolitana. Esta área se caracteriza por actividades de producción agropecuaria, principalmente por ganado lechero, porcino y aves de corral. Los serotipos detectados en este estudio fueron Enteritidis, Typhimurium e Infantis y son también los serotipos no Typhi más comunes diagnosticados en la población chilena (Martínez *et al*, 2016). Además, casi todos los aislamientos mostraron un fenotipo de resistencia múltiple a los antibióticos analizados, es decir, los aislados eran simultáneamente resistentes a tres o más clases de antimicrobianos, lo que sugiere un alto nivel de contaminación ambiental con residuos de fármacos o bacterias resistentes. Las zonas rurales parecen ser las más afectadas, ya que la frecuencia de detección de *Salmonella* fue mayor en las zonas rurales (13/21; 61.9%) que en los sitios urbanos o periurbanos (6/19; 31.6%) (Martínez *et al*, 2016).

El Instituto de Salud Pública de Chile, en su boletín de resistencia antimicrobiana, confirma las cepas sospechosas de *Salmonella* spp., que son aisladas en los laboratorios clínicos públicos y privados del país y realiza vigilancia de la susceptibilidad a los antimicrobianos. Una muestra representativa de las cepas confirmadas es sometida a un estudio de susceptibilidad antimicrobiana por método de difusión en agar (Kirby-Bauer) bajo estándares Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) vigentes. Se evalúan 5 antibióticos: ampicilina, cefotaxima, ciprofloxacino, cloranfenicol y cotrimoxazol (sulfa más trimetoprim). Se observa en los resultados del ISP un bajo porcentaje de resistencia a ampicilina que se ha mantenido en el periodo con un porcentaje promedio de 5%, un bajo porcentaje de cepas resistentes a ciprofloxacino (0,1%), con mayor detección de aislamientos intermedios para este antimicrobiano a partir de 2012. Se destaca la existencia de aislados resistentes a Cefalosporinas de tercera generación, correspondientes al 1% en el período analizado (ISP, 2015). Si se comparan estos niveles de susceptibilidad en cepas de origen humano con las cepas ambientales aisladas por Martínez *et al.*, podemos ver que las cepas ambientales presentan mayores porcentaje de resistencia a los antibióticos

posiblemente por la carga de residuos que existe en el medioambiente al que están expuestas y que podrían ejercer una presión de selección en ellas y por lo tanto, las cepas ambientales de *Salmonella* en este caso, serían más resistentes a los antibióticos que las cepas de origen clínico.

Fresno *et al*, 2013 estudiaron la susceptibilidad en cepas de *Salmonella* aisladas desde gaviotas. Este estudio se considera el más extenso estudio de *Salmonella* en aves acuáticas de América del Sur, ya que abarcó más 2.000 km de litoral entre Arica y Bío Bío, con diferentes sitios de muestreos, los autores lograron detectar 46 cepas de *Salmonella* (tasa de aislamiento del 6%), siendo Enteritidis el serotipo más frecuente (70%). *S. Dublin*, que se considera un serovar adaptado al ganado, también fue detectado y podría representar una evidencia de transmisión entre especies, entre mamíferos terrestres y aves acuáticas. Casi todos los aislamientos encontrados fueron resistentes, al menos a un antimicrobiano, con la mayoría resistente a tetraciclina (74%). Además, las resistencias a tetraciclina y amoxicilina-ácido clavulánico presentaron distribuciones geográficas contrastantes debido a que la primera se detectó principalmente en cepas de Valparaíso, mientras que la última no se detectó en esta región. Cabe destacar que 21 cepas, la mayoría de las cuales pertenecieron al serotipo Enteritidis, tenían fenotipos multirresistentes a un rango de dos a cinco antimicrobianos (Fresno *et al*, 2013). Es posible pensar que quizás además de la contaminación de los ríos o canales con heces de animales de granja en la Región Metropolitana, también se puedan contaminar estas aguas con *Salmonella* resistentes a los antibióticos, provenientes de animales silvestres como aves acuáticas u otros.

Los serotipos zoonóticos de salmonella no son especie-especifico pero si pueden presentarse en mayor frecuencia en ciertas especies animales, como por ejemplo: serotipo Enteritidis en huevos y aves de corral, Typhimurium en ganado bovino, Infantis y Uganda en cerdos, y los serotipos Newport, Litchfield, Javiana asociados a frutas y vegetales (Jackson *et al*, 2013).

Si bien en nuestro estudio sólo se aislaron 3 cepas de *Salmonella* spp, y ninguna de ellas fue aisladas desde hortalizas, y solo una cepa desde agua, la cual fue multirresistente a los antibióticos, lo que concuerda con el estudio de Martinez *et al.*, 2016. Además se logró aislar 2 cepas desde suelo, una de ellas sensible a los 16 antibióticos ensayados y la otra

resistente únicamente a cloranfenicol. Estos datos indican que el agua y el suelo pueden ser vehículos de contaminación para los animales, el alimento y el ser humano con cepas de *Salmonella* spp, lo que representa un riesgo de salud pública.

El hecho de no detectar *Salmonella* en hortalizas sugiere que estos alimentos no serían un vehículo importante de transmisión de este patógeno. Sin embargo, si se aislaron cepas patógenas y resistentes a los antibióticos en muestras de agua y suelos.

Los esfuerzos futuros deberían abordar la caracterización de la relación de causa y efecto entre la contaminación del agua y del suelo, con las enfermedades transmitidas por los alimentos, incluida la aplicación de programas de vigilancia para hacer frente a los riesgos potenciales, tanto para las poblaciones humanas, como animales (Martínez *et al*, 2016).

CONCLUSIONES

- En este estudio los porcentajes de aislamiento de *Salmonella* en las muestras analizadas fueron de un 0% para hortalizas, 0,8% para suelo y 4% para agua.
- Las 3 cepas de *Salmonella* aisladas fueron aisladas del mismo sitio de muestreo, el que correspondió a la comuna de Melipilla.
- Las cepas analizadas presentaron diferentes perfiles de susceptibilidad a los antibióticos, siendo la cepa obtenida desde agua la que presentó resistencia a un mayor número de antibióticos. Esto sugiere que las cepas aisladas desde agua están expuestas a condiciones ambientales más extremas, lo que conllevaría a desarrollar inmunidad a la exposición de ciertos antibióticos.

BIBLIOGRAFÍA

ACHIPIA. 2016. Situación de las Enfermedades de Transmisión Alimentaria en Chile [en línea]. <<http://www.achipia.cl/wp-content/uploads/2016/03/Silvia-Baeza-Minsal-Situacion-de-las-Enfermedades-de-Transmision-Alimentaria-en-Chile-1.pdf>> [consulta: 15-01-2017].

ALERTE, V.; CORTES, S.; DÍAZ, J.; VOLLAIRE, J.; ESPINOZA, M.; SOLARI, V.; CERDA, J.; TORRES, M. 2012. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la región metropolitana, Chile (2005-2010). *Revista Chilena Infectología* 29. (1): 26-31.

CAMPOS, J.; MOURAO, J.; PESTANA, N.; PEIXE, L.; NOVAIS, C.; ANTUNES, P. 2013. Microbiological quality of ready-to-eat salads: An underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes. *International Journal of Food Microbiology* 166: 464–470.

CDC (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION). 2017. National Enteric Disease Surveillance: Salmonella Surveillance Overview [en línea]. <https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/nationalsalmsurveilloverview_508.pdf> [consulta: 14-01- 2017].

CLSI. (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). 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.

DENIS, N.; ZHANG, H.; LEROUX, A.; TRUDEL R.; BIETLOT, H. 2016. Prevalence and trends of bacterial contamination in fresh fruits and vegetables sold at retail in Canada. *Food Control* 67 (225-234).

FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA). 2003. Principios generales de higiene de los alimentos CAC/RCP 1-1969. Revisión 4 (2003). 35 p.

- FRESNO, M.; BARRERA, V.; GORNALL, V.; LILLO, P.; PAREDES, N.; ABALOS, P.; FERNANDÉZ, A.; RETAMAL, P.** 2013. Identification of diverse Salmonella Serotypes, Virulotypes, and Antimicrobial Resistance Phenotypes in Waterfowl From Chile. *Vector Borne Zoonotic Disease* 13(12): 884–887.
- GARCÍA, P.** 2003. Bacterial resistance to antimicrobial agents. *Revista Chilena Infectología* 20. (1): 11-23.
- GUTIÉRREZ, A.; PAASCH, L.; CALDERÓN, N.** 2008. Salmonellosis and campylobacteriosis, the most prevalent zoonosis in the world. *VET MEX* 39(1).
- ISP (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA).** 2010. Vigilancia de salmonella spp. Laboratorio de referencia. [en línea] <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Vigilancia_Salmonella_spp_0.pdf> [consulta: 27-03-2016].
- ISP (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA).** 2014. Vigilancia de Laboratorio de salmonella spp. 2009-2014. *Boletín ISP*, 4(10).
- ISP (INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA).** 2015. Boletín de resistencia antimicrobiana. [en línea] <http://www.ispch.cl/sites/default/files/BoletinRam-30112015A_0.pdf> [consulta: 11-05-2016].
- ISO/TS 6579-2.** 2012. Microbiology of food and animal feed- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of salmonella.
- JACKSON, BR.; GRIFFIN, PM.; COLE, D.; WALSH, KA.; CHAI, SJ.** 2013. Outbreak-associated Salmonella enterica Serotypes and Food Commodities, United States, 1998-2008. [En línea] < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23876503>> [Consulta: 02-11-2017].
- KLAPECL, T.; WOJCIK-FATLAL, A. CHOLEWA, A.; CHOLEWA, G.; DUTKIEWICZL, J.** 2016. Microbiological characterization of vegetables and their rhizosphere soil in Eastern Poland. *Anales de Medicina Agrícola y Ambiental* 2016, 23(4):559-565.
- MARTÍNEZ, MC.; RETAMAL, P.; ROJAS-AEDO, JF.; FERNANDÉZ, J.; FERNANDÉZ, A.; LAPIERRE, L.** 2016. Salmonella strains associated with multidrug-resistant outbreaks In Irrigation Water of the Metropolitan Region, Chile. *Zoonoses Public Health* 64(4):299-304.

NAIR, A.; BALASARAVANAN, T.; MALIK, S.; MOHAN, V.; KUMAR, M.; VERGIS, M.; RAWOOL, D. 2015. Isolation and identification of Salmonella from diarrheagenic infants and young animals, sewage waste and fresh vegetables. *Veterinary World* 8(5):669-673.

NATIONAL ANTIMICROBIAL RESISTANCE MONITORING SYSTEM (NARMS). 2012. Human Isolates Final Report. [en línea] <<http://www.cdc.gov/narms/pdf/2012-annual-report-narms-508c.pdf>> [consulta: 19- 10- 2016].

NEWELL, D.G.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFALL, J.; SCHEUTZ, F.; DER GIESSEN, J.; KRUSE, H. 2010. Food-borne diseases - The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139 (SUPPL. 1).

OLEA, A.; DÍAZ, J.; FUENTES, R.; VAQUERO, A.; GARCÍA, M. 2012. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en Chile. *Revista Chilena Infectología* 29. (5): 504-510.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2002. Estrategia global de la OMS para la inocuidad de los alimentos: alimentos más sanos para una salud mejor. Ginebra. 28 p.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2015a. Inocuidad alimentaria. [en línea]. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>> [consulta: 28-03- 2016].

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2015b. Salmonella no tifoidea. [en línea]. < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/> > [consulta: 09-06- 2016].

OPS (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD). 2001. Guía VETA – Guía de sistemas de vigilancia de las enfermedades transmitidas por alimentos (VETA) y la investigación de brotes. Buenos Aires. OPS/INPAZZ. 199 p.

PARRY, C.; VU, N.; DOLECEK, C.; KARLEY, A.; GUPTA, R.; TURNER, P.; DANCE, D.; MAUDE, R.; HA, V.; TRAN, R.; LE, P.; VAN BE, B.; THI, L.; NGOC, R.; GHOSE, A.; DONGOL, S.; CAMBELL, J.; THANH, D.; THANH, T.; MOORE, C.; SONA, S.; GAIND, R.; DEB, M; ANH, H.; VAN, S.; TINH, H.; DAY, N.;

DONDORP, A.; THWAITES, G.; FAIZ, M.; PHETSOUVANH, R.; NEWTON, P.; BASNYAT, B.; FARRAR, J.; BAKER, S. 2015. Clinically and Microbiologically Derived Azithromycin Susceptibility Breakpoints for *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 59 (5): 2756-2764.

PRIETO, M; MOUWEN, J; LÓPEZ, S.; CERDEÑO, A. 2008. Concepto de Calidad en la Industria Agroalimentaria. *Prisma*, 33(4):258–264.

ULLOA, M. 2016. Enfermedades transmitidas por los alimentos en Chile: Agentes causantes y factores contribuyentes asociados a brotes ocurridos durante el año 2013. Tesis magister en alimentos. Santiago, Chile. U. de Chile, Facultas de ciencias químicas y farmacéuticas. 55p.

URIBE, C.; SUARÉZ, M. 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia médica* 37 (2).

VOJKOVSKÁ H.; MYSKOVÁ, P.; GELBICOVA, T.; SKOCKOVÁ, A.; KOLACKOVÁ, I.; KARPISKOVÁ, R. 2017. Occurrence and characterization of food-borne pathogens isolated from fruit, vegetables and sprouts retailed in the Czech Republic. *Food Microbiology* 63: 147-152.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2008. Initiative to Estimate the Global Burden of Foodborne Diseases. A summary document. [En línea] <http://www.who.int/foodsafety/foodborne_disease/Summary_Doc.pdf> [Consulta: 16-01-2017].

ÍNDICE DE TABLAS

DESCRIPCIÓN	PÁGINA
TABLA 1 NOMBRE Y UBICACIÓN DE CAUCES Y PUNTOS DE MUESTREOS	27
TABLA 2 INTERPRETACIÓN DE LA ZONA DE DIÁMETRO	28
TABLA 3. UBICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RESULTADOS / HORTALIZAS	29
TABLA 4. UBICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RESULTADOS / SUELOS	29
TABLA 5. UBICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RESULTADOS / AGUA	30
TABLA 6. PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS DE LAS CEPAS ENCONTRADAS DE <i>SALMONELLA</i>	31

ÍNDICE DE FIGURAS

DESCRIPCIÓN	PÁGINA
FIGURA 1. NOMBRE Y UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS	32

ANEXOS

Tabla 1. Nombre y ubicación de cauces y de los puntos donde se realizarán los muestreos de agua, verduras y suelo en este estudio.

Nombre	Dirección	Coord. UTM punto muestreo	Comuna
Aguas Claras	Puente Pelvin	6279855	Peñaflor
Canal Picano	Camino El Tránsito. Pomaire.	6272943	Melipilla
Canal Trebulco	21 de mayo N°1710	6272473	Talagante
Canal El Gato	Las Parcelas, Pte. N°2	6267747	Isla Maipo
Canal Carampangue	Camino carampangue (compuertas)	6270383	Isla Maipo
Estero Puangue	Puente Isla de Rojas	6292889	María Pinto

Tabla 2. Interpretación de la Zona de Diámetro en Patógenos de Medicina Veterinaria (CLSI, 2008).

Antibiótico	Código	Zona de diámetro estándar (mm)			<i>E.coli</i> ATCC 25922
		Resistente	Intermedio	Susceptible	
Ampicilina	AMP-10	<13	14-16	>17	16-22
Amoxicilina –Acido Clavulánico	AMC-30	<13	14-17	>18	18-24
Gentamicina	CN-10	<12	13-14	≥15	19-26
Tetraciclina	TE-30	<11	12-14	≥15	18-25
Sulfametazol-trimetoprim	STX-25	<10	11-15	≥16	23-29
Enrofloxacino	ENR-5	≤15	16-20	≥21	30-40
Cefadroxilo	CFR-30	≤14	15-17	≥18	21-27
Ceftiofur	EFT-30	≤14	15-22	≥23	29-35
Cloranfenicol	C-30	≤12	13-17	≥18	31-40
Amikacina	AK-30	≤14	15-16	≥17	19-26
Azitromicina	AZM-15	≤12	NA	≥13	NA
Ceftriaxona	CRO-30	≤13	14-20	≥21	29-35
Ciprofloxacino	CIP-5	≤15	16-20	≥21	30-40
Kanamicina	K-30	≤13	14-17	≥18	17-25
Ácido nalidíxico	NA-30	≤13	14-18	≥19	22-28
Estreptomina	S-10	≤11	12-14	≥15	12-20

Tabla 3. Ubicación y distribución de resultados según punto de muestreo de hortalizas

Nombre	Dirección	Comuna	Total de muestras	N° de muestras positivas
Aguas Claras	Camino Mallarauco Km 31	Peñaflor	150	0
Canal Picano	Camino El Marco Norte /Ruta 78	Melipilla	200	0
Canal Trebulco	Camino Oliveto 4807	Talagante	300	0
Canal El Gato	Las Parcelas, Pte. N°2	Isla Maipo	100	0
Canal Carampangue	Camino carampangue	Isla Maipo	300	0
Estero Puangue	Lo Ovalle	María Pinto	200	0

Tabla 4. Ubicación y distribución de resultados según punto de muestreo de suelos

Nombre	Dirección	Comuna	Total de muestras	N° de muestras positivas
Aguas Claras	Camino Mallarauco Km 31	Peñaflor	30	0
Canal Picano	Camino El Marco Norte /Ruta 78	Melipilla	40	2
Canal Trebulco	Camino Oliveto 4807	Talagante	60	0
Canal El Gato	Las Parcelas, Pte. N°2	Isla Maipo	20	0
Canal Carampangue	Camino carampangue	Isla Maipo	60	0
Estero Puangue	Lo Ovalle	María Pinto	40	0

Tabla 5. Ubicación y distribución de resultados según puntos de muestreos de agua

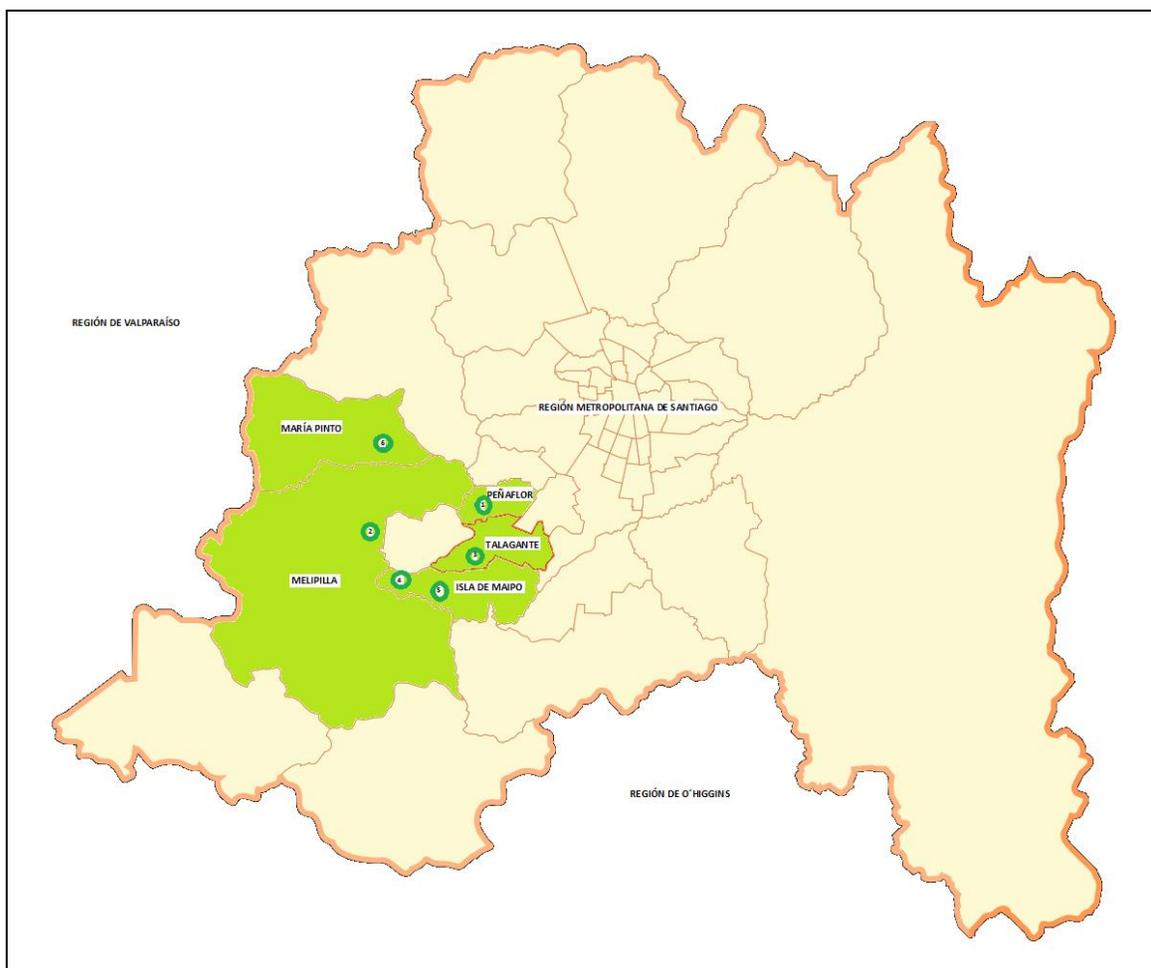
Nombre	Dirección	Comuna	Total de muestras	N° de muestras positivas
Aguas Claras	Puente Pelvin	Peñaflor	3	0
Canal Picano	CaminoEl Tránsito. Pomaire.	Melipilla	4	1
Canal Trebulco	21 de mayo N°1710	Talagante	6	0
Canal El Gato	Las Parcelas, Pte. N°2	Isla Maipo	2	0
Canal Carampangue	Camino carampangue	Isla Maipo	6	0
Estero Puangue	Puente Isla de Rojas	María Pinto	4	0

Tabla 6. Perfil de susceptibilidad a los antibióticos de las cepas encontradas de *Salmonella* en el estudio.

Antibiótico	S. Infantis (SM16-92)	S. Infantis (SM16-97)	S. Muenchen (SM16-102)
AMP-10	sensible	sensible	resistente
AMC-30	sensible	sensible	sensible
CN-10	sensible	sensible	resistente
TE-30	sensible	sensible	resistente
STX-25	sensible	sensible	resistente
ENR-5	sensible	sensible	sensible
CFR-30	sensible	sensible	resistente
EFT-30	sensible	sensible	resistente
C-30	resistente	sensible	resistente
AK-30	sensible	sensible	resistente
AZM-15	sensible	sensible	sensible
CRO-30	sensible	sensible	resistente
CIP-5	sensible	sensible	sensible
K-30	sensible	sensible	resistente
NA-30	sensible	sensible	resistente
S-10	sensible	sensible	sensible

*AMP-10: Ampicilina; AMC: Amoxicilina+Ác. Clavulánico; CN-10: Gentamicina; TE-30: Tetraciclina; STX-25: Sulfa+Trimetropim; ENR-5: Enrofloxacino; CFR-30: Cefadroxilo; EFT-30: Ceftiofur; C-30: Cloranfenicol; AK-30: Amikacina; AZM-15: Azitromicina; CRO-30: Ceftriaxona; CIP-5: Ciprofloxacino; K-30: Kanamicina; NA-30: Ác. Nalidíxico; S-10: Estreptomina

Figura 1. Nombre y ubicación de los puntos donde se realizaron los muestreos.



Estudio: “Detección y caracterización de *Salmonella* en muestras de aguas, suelos y hortalizas desde zonas rurales de la Región Metropolitana”.

LEYENDA

 Puntos de Muestreo

1. Canal Aguas Claras, Peñaflores.
2. Canal Picano, Melipilla.
3. Canal Trebulco, Talagante.
4. Canal El Gato, Isla de Maipo.
5. Canal Carampangue, Isla de Maipo.
6. Estero Puangue, María Pinto