



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

Fenotipos de resistencia antimicrobiana de cepas de *Salmonella enterica* aisladas en muestras de Erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la Región Metropolitana, Chile.

Siboney Eliana Macarena Pérez Barahona

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

PROFESOR GUÍA: Patricio Retamal
Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE

2017



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

Fenotipos de resistencia antimicrobiana de cepas *Salmonella enterica* aisladas en muestras de Erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la Región Metropolitana, Chile.

Siboney Eliana Macarena Pérez Barahona

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

Nota Final:

Prof. Guía: Dr. Patricio Retamal

Profesor Corrector: Dra. Pilar Oviedo

Profesor Corrector: Dr. Pedro Abalos

SANTIAGO, CHILE

2017

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor guía, el Doctor Retamal ya que aceptó el tema que le propuse y guió hasta el fin, quien además tuvo paciencia, mucha, en todo el tiempo que duró esta. A mis profesores correctores Dra. Pilar Oviedo y el Dr. Pedro Abalos, quienes me corrigieron y dieron consejo para finalizar esta memoria. Y no puedo no mencionar a Marcela Fresno, gracias por su ayuda, consejo, alegría y compañerismo en el laboratorio.

Quiero también agradecer a todos los Doctores y futuros colegas que fui conociendo en el camino, quienes confiaron en mí y abrieron sus puertas para darme práctica y conocimiento, que sin ellos no sería quien soy, la familia de MEGAVET (especialmente al Dr. Juan Puga, quien fue la primera persona que confió en que yo podía), al Zoológico de Buin y a mi amado Zoológico Metropolitano, el cual me abrió sus puertas más de una vez, a todo el equipo del Hospital Clínico Bilbao por confiar en mí, valorarme y quererme y por último a los de la Clínica Exzootic Vet, que me apoyaron con la memoria y además entregaron todas las herramientas para enfrentar el área que me apasiona, por 3 años.

Por último, los más importantes, mi familia y amigos. Mamá, Papá, hermanitos y mi Pablo, que estuvieron desde siempre, desde que comencé esta travesía que nunca pensé que costaría tanto terminar; que estuvieron en cada logro, cada llanto, cada alegría, siempre apoyándome. Y especialmente a Javier y Karla, que nunca fallaron. Los amo.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Revisión bibliográfica.....	4
Objetivo general.....	8
Objetivos específicos.....	8
Material y métodos.....	9
Resultados.....	13
Discusión.....	15
Conclusiones.....	17
Bibliografía.....	18
Anexos.....	21

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Agentes zoonóticos transmitidos por erizos de tierra	5
Tabla 2: Mezcla de la reacción de PCR	10
Tabla 3: Condiciones PCR	10
Tabla 4: Caracterización de aislados positivos según comuna, sexo, peso y edad (en números absolutos)	13
Tabla 5: Perfiles fenotípicos de resistencia antimicrobiana.....	14

RESUMEN

En los últimos años se ha masificado la tenencia de mascotas no tradicionales, lo cual se evidencia con el gran número de clínicas veterinarias que se han ido especializando en el área. Siendo en su gran mayoría reptiles, aves y pequeños mamíferos, como lo son los erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) que han ganado terreno de forma rápida.

Estas mascotas son capaces de portar un gran número de agentes patógenos considerados zoonóticos, siendo uno de los más importantes *Salmonella* spp., por lo que es importante su detección y posterior educación al respecto, ya que actualmente la importancia en salud pública de las bacterias del género *Salmonella* está en el aumento de resistencia antimicrobiana que ha tenido en los últimos años, debido al inadecuado uso de antimicrobianos. Por ello el objetivo de esta Memoria fue detectar cepas de *S. enterica* y determinar el patrón fenotípico antimicrobiano de éstas, las cuales fueron aisladas de heces frescas de erizos de tierra criados como mascotas en la Región Metropolitana, pacientes de la Clínica Exzootic Vet.

Se analizaron 200 muestras obtenidas mediante torulado de heces frescas tomadas directamente desde el ambiente. Las cepas que fueron sospechosas se confirmaron mediante la Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR) para el gen *invA*.

Se logró aislar 5 cepas de *salmonella*, no teniendo asociación con el sexo, edad y peso del animal. Se encontró un total de 4 perfiles fenotípicos de resistencia antimicrobiana a cuatro antibióticos: ampicilina, tetraciclina, ceftiofur y cefadroxilo.

Palabras clave: *Salmonella*, fenotipos de resistencia antimicrobiana, erizos de tierra.

ABSTRACT

In recent years, non-traditional pet ownership has become widespread, as evidenced by the increasing number of specialized veterinary clinics in the area. Mostly reptiles and small mammals, such as hedgehogs (*Atelerix albiventris*), have gained ground quickly.

These pets are able to carry a large number of pathogens considered zoonotic, being one of the most important *Salmonella* spp. As such, its detection and the subsequent education of owners is critical, considering the public health risks of this bacterium and its increased antimicrobial resistance observed in the last years, due to the inadequate use of antimicrobials. Therefore, the objective of this work was to detect strains of *S. enterica* and to determine their resistance phenotypic patterns, through sampling of fresh feces of hedgehogs raised as pets in the Metropolitan Region, all of them patients of the Exzootic Vet Clinic.

Two hundred samples were obtained by a swab of fresh feces taken directly from the environment. Suspicious strains were confirmed by the Polymerase Chain Reaction (PCR) for the *invA* gene detection.

Five strains were isolated, and no association between the presence of *Salmonella* and other factors (sex, age, and weight) of the animal was detected. A total of 4 phenotypic profiles of antimicrobial resistance were found, including four antibiotics: ampicillin, tetracycline, ceftiofur and cefadroxil.

Key words: *Salmonella*, profiles of antimicrobial resistance, hedgehogs.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha popularizado la tenencia de mascotas exóticas, o no convencionales en nuestro país. Dentro de ellos, los pequeños mamíferos como los conejos, cuyes, petauros y erizos de tierra, han tomado un papel importante, siendo este último uno de los más cotizados.

La especie que se encuentra en Chile es el erizo pigmeo africano (*Atelerix albiventris*) del cual no hay muchos estudios que hagan referencia a su potencial como reservorio de agentes patógenos zoonóticos. Sin embargo, diferentes reportes extranjeros indican el hallazgo de ciertas cepas de *Salmonella* en estos animales, asociados a casos humanos.

Salmonella enterica es uno de los principales agentes zoonóticos transmitidos por los alimentos a nivel mundial. Los animales de producción, y particularmente las aves de corral, se consideran las principales fuentes de transmisión. Sin embargo, las mascotas son consideradas como reservorios asintomáticos, los cuales son una potencial fuente de infección para las personas.

El objetivo de este trabajo es detectar *Salmonella* de muestras fecales directas de erizos de tierra y obtener sus perfiles fenotípicos de resistencia antimicrobiana, siendo estos pacientes de una clínica especializada.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las mascotas no tradicionales han llegado a tener una gran popularidad. Aparte de reptiles, anfibios y peces exóticos, las mascotas no convencionales incluyen una variedad de especies de mamíferos como los primates no humanos, petauros, hurones, perros de la pradera y erizos de tierra (Hoelzer *et al.*, 2011).

Estos últimos son originarios de Europa, Asia y África, y aunque existen varias especies, dos en particular, son comúnmente vistos como animales de compañía: el erizo europeo (*Erinaceus europaeus*), y los erizos africanos (*Atelerix sp*, *Hemiechinus sp*) (Riley y Chomel, 2005; Aguilar *et al.*, 2010). Siendo este último (*Atelerix albiventris*) el más difundido como mascota alrededor del mundo como también en nuestro país (Fredes y Román, 2004). Pese a esto, en Estados Unidos están prohibidos desde 1991, dado por su potencial capacidad de portar el virus de la fiebre aftosa (Riley y Chomel, 2005). Respecto a la situación nacional, desde el año 2007 no se ha hecho ingreso de este tipo de animal, ni tampoco se tiene un registro de su reproducción en Chile (Dra. Mónica Osorio, Estación Cuarentenaria Pecuaria del Servicio Agrícola y Ganadero, comunicación personal, 2015).

Las especies africanas son pequeñas, de color brillante y no hibernan (característica de las especies europeas), aunque una disminución en la temperatura de su recinto los estimulará a entrar a un estado de letargia que no es deseable en cautiverio, siendo lo ideal una temperatura optima de 24-29° C (Aguilar *et al.*, 2010). Respecto a su alimentación se les debe considerar omnívoros en sentido estricto, ya que se alimentan principalmente de insectos, babosas, gusanos y caracoles (Aguilar *et al.*, 2010) y de hongos, frutas y ciertas hortalizas (Santana *et al.*, 2010). La mayoría de las dietas están basadas en fórmulas para gatos (Meredith y Redrobe 2012). El inconveniente de estas dietas es que el porcentaje de fibra requerido es menor y el de grasas es muy elevado, y se recomiendan dietas insectívoras comerciales (Aguilar *et al.*, 2010). La ausencia de insectos en su dieta podría causar una malnutrición y favorecer la invasión de patógenos oportunistas (Santana *et al.*, 2010).

Entre las condiciones médicas que podrían afectarlos se pueden señalar: tumores, enfermedad cardíaca, síndrome erizo tambaleante, entre otras y a nivel digestivo: enfermedades dentales, ingesta de cuerpos extraños, parásitos y diarrea (Aguilar *et al.*,

2010; Meredith y Redrobe, 2012). Las causas de esta última condición están relacionadas con dieta inapropiada o cambios repentinos en ella, por agentes parasitarios y bacterianos, siendo *Salmonella* spp. agente etiológico de esta última (Aguilar *et al.*, 2010).

Entre los agentes biológicos, los erizos pueden ser afectados por una amplia variedad de virus, bacterias, hongos y parásitos. Se han reportado especies de erizos que pueden portar y/o transmitir enfermedades que infectan animales de granja, animales domésticos, fauna nativa y humanos en todo el mundo (Zare & Ghorbani-Choboghlo, 2015). Además, se ha descrito que son portadores de un número importante de agentes zoonóticos (Tabla 1).

Tabla 1: Agentes zoonóticos transmitidos por erizos de tierra.

AGENTES	
Virus	Virus de la rabia, herpes virus (herpes humano simple), fiebre hemorrágica Crimean-Congo, paramyxovirus.
Bacterias	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , <i>Mycobacterium marinum</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Chlamyphila</i> , <i>Coxiella burnetii</i> y <i>Yersinia pestis</i> .
Parásitos	<i>Cryptosporidium</i> y <i>Toxoplasma gondii</i> .
Hongos	Dermatofitos y <i>Candida albicans</i> .

(Riley y Chomel 2005; Lennox, 2007; Santana *et al.*, 2010)

Pero el agente zoonótico con el mayor número de aislados en cautiverio (28%), es *Salmonella*, actuando en ellos como portadores asintomáticos (Riley y Chomel 2005; Santana *et al.*, 2010). Y se ha descubierto que los erizos enanos juegan un rol importante en la transmisión de *S. enterica* serotipo Tilene, un agente que puede causar enfermedad en humanos (Riley y Chomel 2005; Pignon y Mayer, 2011; Meredith y Redrobe, 2012; Kagambega *et al.*, 2013).

Salmonella es un bacilo Gram negativo, intracelular facultativo, de la familia Enterobacteriaceae. Su género actualmente se divide en dos especies, *bongori* y *enterica*. (Agbaje *et al.*, 2011)

S. enterica es una bacteria ampliamente distribuida en la naturaleza, que produce una gran variedad de enfermedades y posee un amplio rango de hospederos, incluyendo humanos, mamíferos, aves y reptiles y usualmente se traduce en una gastroenteritis autolimitante (Agbaje *et al.*, 2011; Braun *et al.*, 2015; Zare & Ghorbani-Choboghlo, 2015). Sin embargo, en pacientes con factores de riesgo como niños menores de cinco años, pacientes inmunocomprometidos y adultos mayores, estas infecciones pueden producir meningitis, sepsis e incluso la muerte (Braun *et al.*, 2015).

Las serovariedades zoonóticas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino animal, siendo las aves y sus productos las fuentes más comunes de infección, generalmente asociado a brotes de enfermedad transmitida por los alimentos (ETA). En Chile, en el periodo entre Enero de 2009 y Julio de 2014, se confirmaron 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. Según la información disponible sobre enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) del MINSAL al primer semestre de 2014, sólo 8% de los brotes tuvo agentes identificados y, de éstos, *Salmonella* spp. correspondió a 88% (ISP, 2014).

Las infecciones por *Salmonella* spp. en humanos son causadas por ingesta de agua o alimentos contaminados, transmisión entre personas y exposición al ambiente o animales, siendo los reservorios principales de *Salmonella* spp. animales portadores asintomáticos (Braun *et al.*, 2015).

Según Kagambega *et al.* (2013) quienes realizaron estudios en Burkina Faso (África Occidental), los erizos viven en lugares contaminados por heces de animales de abasto, los cuales podrían estar infectados por *Salmonella* y por lo tanto, estos podrían presentar una alta tasa de portación de este patógeno. Tras un análisis de muestras de heces de varios animales donde se incluyeron los erizos, se obtuvo una prevalencia de un 96%, obteniéndose además 8 serotipos, siendo el serotipo predominante *S. Muenster*. Además, hace una diferencia con los países desarrollados, donde el serotipo predominante es *S. Tilene*, el cual además no tenía relación con animales de abasto.

En otro estudio noruego (Handeland *et al.*, 2002) se aisló *Salmonella* en erizos salvajes, estimando una prevalencia entre 0 y 41%, que variaba considerablemente según el área geográfica y cuyos aislados estaban asociados a brotes de *S. Typhimurium* en humanos. Aun así poco se sabe acerca de la prevalencia, la patogenicidad y la distribución de *Salmonella* entre las mascotas mamíferas no tradicionales o sus parientes silvestres (Hoelzer *et al.*, 2011).

Así como los reptiles, debería asumirse que todos los erizos que sean mascotas, pueden ser portadores y transmitir este patógeno (Pignon y Mayer, 2011).

La enfermedad clínica asociada con la infección por *Salmonella* se ha descrito en los petauros y erizos, pero un gran número de casos se cree que son asintomáticos (Hoelzer *et al.*, 2011). El tratamiento es poco probable que tenga éxito dado por el estado de portador del animal y no se debe intentar por la posible resistencia a antibióticos que se pueda favorecer (Pignon y Mayer, 2011).

Aun así, en relación con la resistencia antimicrobiana en erizos de tierra hay muy pocos antecedentes. Un estudio reciente hecho por Zare & Ghorbani-Choboghlo (2015) se logró aislar ciertas bacterias Gram negativas zoonóticas desde el tracto gastrointestinal del erizo de orejas largas (*Erinaceus concolor*), logrando obtener *Salmonella* Typhimurium la cual presentó resistencia antimicrobiana para ampicilina, tetraciclina, y polimixina E.

El objetivo de este trabajo es detectar cepas de *Salmonella* spp. en erizos de tierra (*Atelerix albiventrix*) en la Región Metropolitana y determinar fenotipos de resistencia a antimicrobianos. La información generada en este trabajo será de utilidad para educar a los médicos veterinarios y tenedores de estas mascotas frente a los riesgos que conlleva su crianza.

HIPÓTESIS

Existen cepas de *S. enterica* con distintos fenotipos de resistencia antimicrobiana en erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la RM de Chile.

OBJETIVO GENERAL

Establecer fenotipos de resistencia antimicrobiana en cepas de *S. enterica* tras el aislamiento de éstas en heces de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la RM, Santiago, Chile.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la existencia de cepas de *S. enterica* en erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la RM.
2. Determinar fenotipos de resistencia a antibióticos en estas cepas de *S. enterica*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Se obtuvieron muestras de deposiciones recién emitidas de 200 erizos, mediante tómulas con medio de transporte Cary-Blair. Los animales muestreados son pacientes de la Clínica Exzootic Vet, provenientes de la Región Metropolitana. Éstos estaban libres de tratamiento con antibiótico por al menos dos semanas.

El tamaño muestral consideró la inclusión de aproximadamente el 10% del total de erizos atendidos en la clínica.

Aislamiento bacteriológico (Realizado en L.E.I FAVET.)

Al contenido fecal de cada tórula se agregó 1mL de agua peptonada (APT, Difco®), las cuales se inocularon en tubos de ensayos con 4 mL de este mismo medio suplementado con 20 mg/mL de Novobiocina (Sigma ®) y se incubaron a 37° C por 24 horas. Luego, 100 µL de la suspensión bacteriana se sembró en agar modificado semisólido Rappaport Vassilidis (MSRV, Oxoid ®) suplementado con 20 mg/mL de Novobiocina, y se incubó por 24-48 horas a 41,5°C. Aquellas muestras que presentaron crecimiento fueron sembradas por agotamiento en agar Xylosa Lysina Deoxycolato (XLD, Difco ®) y se incubaron nuevamente a 37° C por 24 horas. Aquellas placas que presentaron colonias oscuras o translúcidas fueron confirmadas mediante la detección del gen *invA* en una prueba de PCR, utilizando los primarios: *InvA1* (5'-gtgaaattatcgccacgttcgggcaa-3') e *InvA2* (5'-tcatcgcaccgtcaaaggaacc-3') previamente descritos por Malorny *et al.* (2003). Como controles positivos se utilizaron cepas de *S. Enteritidis* aisladas en el laboratorio, y como controles negativos, mezclas de la reacción sin templado. Las condiciones de amplificación utilizadas se especifican en las Tablas 2 y 3.

Posteriormente, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2% utilizando como tinción Bromuro de Etidio durante 40 minutos. La visualización de los amplificadores se realizó en un equipo de fotocaptura UV.

Tabla 2. Mezcla de la reacción de PCR.

Reactivo	Concentración	Volúmenes (µL)
Buffer Taq 10x	1X	1
MgCl₂ 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
H₂O	csp	6,98
Volumen final		10

Tabla 3. 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

Detección de fenotipos de resistencia a antibióticos

La susceptibilidad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en placa (Kirby Bauer), de acuerdo a las normas recomendadas por el *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) y el *National Antimicrobial Resistance Monitoring System* (NARMS, 2011). Se evaluaron los siguientes antimicrobianos: enrofloxacin (10µg), amoxicilina + ácido clavulánico (20/10 µg), gentamicina (10µg), tetraciclina (30µg), sulfametoxazol + trimetoprim (23,75/1,25 µg), ceftiofur (30µg), ampicilina (10µg), cefadroxilo (30µg), azitromicina (15 µg), ceftriaxona (30 µg), kanamicina (30 µg), ácido nalidíxico (30 µg). Se utilizó *Escherichia coli* ATCC 25922 como cepa control. Los rangos de inhibición de crecimiento bacteriano utilizados como criterio para determinar susceptibilidad y resistencia según el NARMS (2011), se encuentra en anexo 1.

Procedimiento

1. Preparación de las placas:

Se usó agar Muller-Hinton, preparado de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el fabricante. Las placas de este agar tenían una superficie uniforme y una profundidad de aproximadamente 4 mm (20 mL de agar MH por placa). Una vez agregado el agar, se dejó secar cada placa por 10 minutos bajo campana antes de cerrarlas.

2. Preparación de inóculos bacterianos:

Las cepas en estudio y la cepa control se sembraron en 2 mL de APT y se incubaron por 18 a 24 h a $36\pm 1^\circ$ C. Luego, 100 μ L de la suspensión bacteriana se inoculó en 5 mL de APT, posteriormente se midió OD_{600} en espectrofotómetro hasta alcanzar una OD_{600} de 0,25 ($1-5 \times 10^8$ UFC/mL).

3. Inoculación de placas y aplicación de sensidiscos:

Cada suspensión bacteriana, fue sembrada uniformemente sobre la superficie de una placa de agar MH donde se utilizó una tórula de algodón estéril. Una vez inoculadas, las placas se dejaron secar en reposo por algunos minutos para luego colocar sensidiscos equidistantes entre sí sobre el agar. Posteriormente, fueron incubadas a $36\pm 1^\circ$ C por 18 a 24 h.

4. Lectura e interpretación de resultados:

La lectura se realizó midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano proyectado desde el sensidisco, interpretándose como Sensible (S) o Resistente (R). Aquellos crecimientos clasificados como sensibilidad intermedia según el CLSI (2012), fueron considerados como resistentes.

Análisis de resultados

El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva y los resultados se representaron con tablas y gráficos.

Bioseguridad

Según las buenas prácticas de laboratorio, las manos se lavaron y desinfectaron con alcohol 70° tanto al entrar como al salir del laboratorio, y se utilizó siempre el delantal cerrado, guantes desechables y el pelo recogido.

Salmonella está clasificada como agente de riesgo intermedio, y sus medidas de contención son de nivel de aislamiento tipo II. Los protocolos de manejo de muestras se realizaron en una cabina de bioseguridad nivel IIA; el acceso a los laboratorios solo se permitió a personal autorizado, y se utilizaron desinfectantes y contenedores para el material contaminado, los cuales fueron autoclavados antes de su eliminación.

Finalmente, el almacenamiento de las placas Petri fue en recipientes herméticos en un refrigerador dispuesto para este fin, con su identificación correspondiente.

RESULTADOS

1. Determinación de cepas de *S. enterica* en erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) criados como mascotas en la RM.

En este estudio se analizó un total de 200 muestras de heces frescas de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) tomadas directamente luego de su deposición, en búsqueda de *S. enterica*, de los cuales 5 (2,5%) fueron positivos tras su confirmación mediante la técnica de PCR.

Además, cada erizo positivo se clasificó según sexo, edad y peso (Tabla 4). determinándose que no había asociación entre estos parámetros y la presencia de *Salmonella* spp. ($p>0,05$).

Tabla 4: Descripción de aislados positivos según sexo, peso y edad (en números absolutos).

ID aislado	Sexo	Peso (gr.)	Edad
Spp47	Hembra	231	3 meses
Spp101	Macho	302	1.8 años
Spp111	Hembra	348	2.7 años
Spp142	Hembra	304	2.2 años
Spp162	Hembra	365	4.2 años

2. Determinación de fenotipos de resistencia a antibióticos en estas cepas de *S. enterica*.

Con las cepas aisladas y en base a los resultados del radio de inhibición de crecimiento bacteriano mediante el método de difusión en placa (Anexo 2), se obtuvieron los perfiles fenotípicos de resistencia antimicrobiana que se observan en la Tabla 5.

Tabla 5: Perfiles fenotípicos de resistencia antimicrobiana.

Agente antimicrobiano	Spp101	Spp111	Spp 142	Spp162	Spp47
Enrofloxacino	0	0	0	0	0
Amoxicilina + ácido clavulánico	0	0	0	0	0
Gentamicina	0	0	0	0	0
Tetraciclina	1	0	0	0	0
Sulfametoxazol + trimetoprim	0	0	0	0	0
Ceftiofur	1	0	1	0	0
Ampicilina	1	0	0	0	0
Azitromicina	0	0	0	0	0
Ceftriaxona	0	0	0	0	0
Kanamicina	0	0	0	0	0
Ac. Nalidíxico	0	0	0	0	0
Cefadroxilo	0	0	0	1	1

1= presencia de un fenotipo de resistencia; 0 = ausencia de un fenotipo de resistencia.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos del estudio confirman la presencia de *S. enterica* en erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) de la RM, lo cual ha sido reportado en algunos países de América del Norte, Europa y África (Craig *et al.*, 1997; Handeland *et al.*, 2002; Chomel *et al.*, 2007; Kagambega *et al.*, 2013; Anderson *et al.*, 2015).

La mayoría de los estudios se realizaron en animales silvestres por lo que la prevalencia podía llegar a ser desde un 0% (Handeland *et al.*, 2002) hasta un 96% (Kagambega *et al.*, 2013), a diferencia de lo obtenido en este estudio que fue de tan solo un 2,5%. Esto puede deberse principalmente a las condiciones higiénicas mantenidas por los propietarios y que estos animales no tenían contacto con animales de abasto. Aun así, se han asociado infecciones por *Salmonella spp.* en humanos que mantenían como mascota a erizos (Craig *et al.*, 1997; Riley y Chomel 2005; Chomel *et al.*, 2007). Por otra parte, la baja tasa de detección establecida en este trabajo podría deberse a que el muestreo no fue seriado, similar a la literatura estudiada (Handeland *et al.*, 2002; Kagambega *et al.*, 2013; Zare & Ghorbani-Choboghlo, 2015). Pese a que haya signología asociada a salmonelosis como la anorexia, diarrea y pérdida de peso (Riley y Chomel, 2005), sigue siendo inespecífica y animales muestreados con estas características no fueron positivos.

En Chile, es difícil identificar una posible infección con *Salmonella* y asociarla a estos animales, a diferencia de países como Estados Unidos, Noruega, Canadá y Burkina Faso (Craig *et al.*, 1997; Handeland *et al.*, 2002; Chomel *et al.*, 2007; Kagambega *et al.*, 2013; Anderson *et al.*, 2015) debido a que no hay asociación entre brotes de *Salmonella* con la tenencia de estos animales.

La técnica de aislamiento y confirmación por PCR es la recomendada por el ISP y usada también en los estudios mencionados por Handeland *et al.* (2002), Kagambega *et al.* (2013) y por Zare & Ghorbani-choboghlo (2015).

En cuanto a los fenotipos de resistencia hay concordancia con reportes extranjeros en al menos una de las cepas, en que se describe resistencia a ampicilina y tetraciclina (Zare & Ghorbani-Choboghlo, 2015; Kagambega *et al.*, 2013) además de ceftiofur, hallazgo único de este trabajo (en dos cepas), la cual es una cefalosporina de 3^a generación que se utiliza

solamente como antimicrobiano de uso veterinario. Por otro lado, respecto a la resistencia presentada hacia tetraciclina, como indica Farías *et al.* (2014), es una de las más vistas entre distintos animales, tanto en cautiverio como en especies exóticas. Esto podría deberse a que este antimicrobiano exhibe actividad contra diversos grupos de bacterias, motivo por el cual es ampliamente utilizado para terapia en infecciones humanas y para la prevención y control de infecciones en plantas y animales (López *et al.*, 2009). En un estudio realizado por Junod *et al.*, (2013), donde analizaron muestras de distintos animales de abasto, se logró evidenciar una alta resistencia a oxitetraciclina (69,1%), siendo la más alta, aunque también se encontró resistencia a ampicilina, flumequina, ceftiofur y sulfadiazina-trimetoprim. Algunos de estos compuestos, junto a las tetraciclinas, han sido utilizados por décadas en la producción animal, ya sea como profilaxis o con fines terapéuticos, y en tratamiento de infecciones humanas por lo que su resistencia está ampliamente difundida.

En relación a los fenotipos de resistencia a tetraciclina y ampicilina detectados en una de las cepas aisladas, estos agentes antibióticos siguen teniendo gran importancia en la clínica, comúnmente utilizados para controlar una amplia gama de enfermedades humanas y animales. Y el hecho de que se haya observado resistencia para cefadroxilo y ceftiofur, principalmente este último de uso exclusivo para animales, deja en evidencia lo importante de regular el uso generalizado de antibióticos para el tratamiento de las enfermedades, tanto en animales como seres humanos.

CONCLUSIÓN

1. Se acepta la hipótesis establecida en este estudio que determina la presencia de *Salmonella* spp. en erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) en la Región Metropolitana, las que presentaron resistencia fenotípica a los antibióticos ampicilina, tetraciclina, ceftiofur y cefadroxilo.

BIBLIOGRAFÍA

- **AGUILAR, R., HERNÁNDEZ, S., DIVERS, S., PERPIÑAN, D.** 2010. Atlas de Medicina de Animales Exóticos. 2da Ed. Intermedica. Buenos Aires, Argentina. 326-329.
- **AGBAJE, M., BEGUM, R.H., OYEKUNLE, M.A., OJO, O.E., ADENUBI, O.T.** 2011. Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. Folia Microbiol (Praha). 56(6):497-503
- **ANDERSON, T.; MARSDEN-HAUG, N.; MORRIS, J.; CULPEPPER, W.; BESSETTE, N.; ADAM, J.; BIDOL, S.; MEYER, S.; SCHMITZ, J.; ERDMAN, M.; GOMEZ, T.; BARTON, C.** 2016. Multistate Outbreak of Human *Salmonella* Typhimurium Infections Linked to Pet Hedgehogs – United States, 2011–2013. Zoonoses and public health.
- **BRAUN, S.; SPALLONI, W.; FERRECCIO, F.; POSTIGO, J.; FERNÁNDEZ, A.; PORTE, L.; SALDIVIA, A.; WIGANT, W.; TRIANTAFILO, V.** 2015. Gastroenteritis por *Salmonella* spp. en tres lactantes asociada a contacto con tortugas acuáticas. Rev Chilena Infectol. 32(3):334-8.
- **CRAIG, C.; STYLIADIS, S.; WOODWARD, D.; WERKER, D.** 1997. African pygmy hedgehog--associated *Salmonella* typhimurium in Canada. Can Commun Dis Rep. 1;23(17):129-31; discussion 131-2.
- **CHOMEL, B.; ALBINO BELOTTO, A.; MESLIN, F.** 2007. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. Emerg Infect Dis. 13(1):6-11.
- **CLSI. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE.** 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. 27(3): 1-182.
- **FARIAS, L.; OLIVEIRA, C.; MEDARDUS, J.; MOLLA, B.; WOLFE, B.; GEBREYES, W.** 2015. Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella enterica* in Captive Wildlife and Exotic Animal Species in Ohio, USA. Zoonoses Public Health. 62(6):438-444.

- **FREDES, F.; ROMÁN, R.** 2004. Fauna parasitaria en erizos de tierra africanos. *Parasitol. Latinoam.* 59(1): 79-81.
- **HANDELAND, K.; REFSUM, T.; JOHANSEN, B.; HOLSTAD, G.; KNUTSEN, G.; SOLBERG, I.; SCHULZE, J.; KAPPERUD, G.** 2002. Prevalence of *Salmonella* Typhimurium infection in Norwegian hedgehog populations associated with two human disease outbreaks. *Epidemiol Infect.* 128(3):523-7.
- **HOELZER, K.; SWITT, A.; WIEDMANN M.** 2011. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Vet Res.* 14(42):34-35.
- **ISP. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2014. Boletín laboratorio y vigilancia al día Instituto de Salud pública de Chile. Departamento de Asuntos Científicos. 4 (10).
- **JUNOD, T.; LÓPEZ-MARTIN, J.; GÄDICKE, P.** 2013. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario *Rev Med Chil.* 141(3):298-304.
- **KAGAMBEGA, A.; LIENEMANN, T.; AULU, L.; TRAORÉ, A.; BARRO, N.; SIITONEN, A.; HAUKKA, K.** 2013. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. *BMC Microbiol.* 11(13):253-254.
- **LENNOX, A.** 2007. Emergency and critical care procedures in sugar gliders (*Petaurus breviceps*), African hedgehogs (*Atelerix albiventris*), and prairie dogs (*Cynomys* spp). *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 10(2):533-55.
- **LOPEZ, O.; LEON, J.; JIMENEZ, M.; CHAIDEZ, C.** 2009. Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola. *Rev. fitotec. mex* [online]. 32 (2) pp.119-126.
- **MALORNY, B.; HOORFAR, J.; BUNGE, C.; HELMUTH, R.** 2003. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: Towards an international standard. *Appl Environ Microbiol.* 69(1):290-296.

- **MEREDITH, A.; REDROBE, S.** 2012. Manual de animales exóticos. 4ª ed. Colección BSAVA. Barcelona, España. Pp 152-158.
- **NARMS. NATIONAL ANTIMICROBIAL RESISTANCE MONITORING SYSTEM.** 2011. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): Human Isolates Final Report. Department of Health and Human Services, CDC. Atlanta, Georgia, U.S. 70p.
- **PIGNON, CH.; MAYER, J.** 2011. Zoonoses of Ferrets, Hedgehogs, and Sugar Gliders. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 14(3):533-549
- **RILEY, P.; CHOMEL, B.** 2005. Hedgehog Zoonoses. Emerg Infect Dis. 11(1):20-25.
- **SANTANA, E.; JANTZ, H.; BEST, T.** 2010. *Atelerix albiventris* (Erinaceomorpha: Erinaceidae). Mammalian Species. 42(1) 99-110.
- **ZARE, P.; GHORBANI-CHOBOGHLO, H.** 2015 Isolation and characterization of multidrug resistant gram-negative bacteria found in free ranging long-eared Hedgehogs (*Erinaceus concolor*) from Tabriz, Iran. J. of Exotic Pet Med. 22(1):235-239.

ANEXOS

Anexo 1. Rangos de inhibición de crecimiento bacteriano utilizados como criterio para determinar susceptibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia según lo indicado por el National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS, 2011).

Agente microbiano	Cantidad en disco (μg)	Sensible (mm)	Intermedio (mm)	Resistente (mm)
Enrofloxacino	10	≥ 21	16-20	≤ 15
Amoxicilina + ácido clavulánico	42663	≥ 18	14-17	≤ 13
Gentamicina	10	≥ 15	13-14	≤ 12
Tetraciclina	30	≥ 15	12-14	≤ 11
Sulfametoxazol + trimetoprim	23,75 + 1,25	≥ 16	11-15	≤ 10
Ceftiofur	30	≥ 23	15-22	≤ 14
Ampicilina	10	≥ 17	14-16	≤ 13
Azitromicina	15	≥ 13	-	≤ 12
Ceftriaxona	30	≥ 23	20-22	≤ 19
Kanamicina	30	≥ 18	14-17	≤ 13
Ac. Nalidixico	30	≥ 19	14-18	≤ 13
Cefadroxilo	30	≥ 18	15-17	≤ 14

Anexo 2. Radio de inhibición de crecimiento bacteriano (en milímetros) para el panel de 12 antimicrobianos.

Cepas /Agente antimicrobiano	Enrofloxacin	Amoxicilina + clavulánico	Gentamicina	Tetraciclina	Sulfametoxazol + trimetoprim	Ceftiofur	Ampicilina	Azitromicina	Ceftriaxona	Kanamicina	Ácido nalidixico	Cefadroxilo
E. coli ATCC 25922	13	23	23	23	22	27	20	13	34	19	25	16
Spp47	28	22	20	20	22	22	22	16	23	20	21	16*
Spp101	28	28	25	-.**	30	-.**	-.**	30	33	27	22	20
Spp111	34	30	23	26	28	26	26	14	33	25	25	20
Spp142	33	30	27	26	32	10**	28	27	33	27	21	25
Spp73	31	29	26	28	29	27	27	16	26	25	29	17*