

ISSN 0120-4157

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

Citación provisional:

Flórez NY, Arévalo SA, Rodríguez EC, Guerrero J, Valverde KP, Díaz PL, et al.

Brote de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* ser. Give (S. Give) asociado con enfermedad transmitida por alimentos en el departamento de Vichada, año 2015.

Biomédica. 2021;41 (1).

Recibido: 09-12-19

Aceptado: 30-08-20

Publicación en línea: 31-08-20

Brote de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* ser. Give (S. Give) asociado con enfermedad transmitida por alimentos en el departamento de Vichada, año 2015

Outbreak of *Salmonella enterica* subesp. *enterica* ser. Give (S. Give) associated with foodborne illnesses in the Vichada state region, 2015

Brote por *Salmonella* Give, Vichada 2015

Nancy Yaneth Flórez ¹, Stefany Alejandra Arévalo ², Edna Catering Rodriguez ³, Jaime Guerrero ⁴, Kelly Paola Valverde ⁵, Paula Lucía Díaz ¹, Lucy Angeline Montaña ², Doris Mabel Gartner ³, Carolina Duarte ², Jaime Enrique Moreno¹

¹ Grupo de Microbiología, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Microbiología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas, Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Grupo Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos, Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

5. Secretaría de Salud del Departamento de Vichada, Laboratorio Departamental de Salud Pública, Vichada, Colombia

Correspondencia:

Nancy Yaneth Flórez, Grupo de Microbiología, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Calle 26 No. 51-20 Zona CAN, Bogotá D.C, Colombia.

Teléfono: (051) 2207700; ext 1421

nflorez@ins.gov.co

Contribución de los autores.

Nancy Yaneth Flórez y Paula Lucía Díaz: desarrollo de métodos moleculares.

Stefany Alejandra Arévalo, Edna Catering Rodríguez, Lucy Angeline Montaña y

Doris Mabel Gartner: desarrollo de métodos fenotípicos.

Jaime Guerrero: análisis epidemiológico.

Kelly Paola Valverde: recolección, manejo y envío de muestras biológicas.

Carolina Duarte, Jaime Enrique Moreno: coordinación del proyecto,

Todos los autores participaron en el desarrollo del proyecto y en la escritura del manuscrito:

Introducción. *Salmonella enterica* subesp. *enterica* ser. Give se encuentra en rumiantes, cerdos, aves, ambientes acuáticos y rara vez en humanos; en Colombia, este serotipo ocupó el puesto 11 en la vigilancia por laboratorio de la enfermedad diarreica aguda entre 2000 y 2013.

Objetivo. Caracterizar fenotípica y genotípicamente aislamientos de *S. Give* relacionados con un brote de enfermedad transmitida por alimentos en el Vichada, semana epidemiológica cinco, 2015.

Materiales y métodos. Siguiendo el método de ensayo del Instituto Nacional de Salud se buscó *Salmonella* spp., en 37 muestras de materia fecal. La muestra de sardinas enlatadas fue procesada según la norma ISO6579:2002 Cor.1:2004. Los aislamientos confirmados fueron serotipificados por serología y/o PCR en tiempo real, se realizaron pruebas de sensibilidad a antimicrobianos y electroforesis en gel de campo pulsado con las enzimas *XbaI* y *BlnI*.

Resultados. Todos los aislamientos de origen humano (11) y el aislamiento del alimento (1) se identificaron como *S. Give*; el aislamiento del alimento presentó resistencia a tetraciclina. El análisis por PFGE-*XbaI* con un 96,3% de similitud agrupó en el patrón COIN15JEXX01.0005 diez aislamientos de origen humano y, en el COIN15JEXX01.0006 a los aislamientos restantes. Todos los aislamientos fueron confirmados con la enzima *BlnI*, cuatro de ellos fueron agrupados con un porcentaje de similitud del 95,65% en el patrón COIN15JEXA26.002 (tres aislamientos humanos y el del alimento).

Conclusión. Este estudio confirmó que las sardinas enlatadas se relacionaron con la transmisión de *S. Give* en el brote. Este es el tercer brote ocasionado por este serotipo en Colombia.

Palabras clave: *Salmonella*; brotes de enfermedades; enfermedades transmitidas por los alimentos; vigilancia epidemiológica; Colombia.

Introduction: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Give is found in ruminants, pigs, poultry, aquatic environments and rarely in humans; in Colombia, this serotype was ranked 11th in the laboratory surveillance of acute diarrheal disease between the years 2000 and 2013. Ç

Objective: Characterize phenotypic and genotypic isolates of *Salmonella* related to an outbreak of Foodborne Illness in the region of Vichada, epidemiological week five, 2015.

Materials and Methods: Following the test method of the “Instituto Nacional de Salud”, *Salmonella* spp. was sought in 37 fecal samples. The sample of canned sardines was processed according to ISO6579:2002 Cor.1:2004 standard. The isolations were confirmed by serology and/or real time PCR, antimicrobial susceptibility tests and gel electrophoresis pulse fields with *XbaI* and *BlnI* enzymes.

Results: All isolated samples of human origin (11) and isolation of food (1) were identified as *S. Give*; food isolation provided tetracycline resistance. PFGE analysis-*XbaI* with 96,3% similarity in pattern COIN15JEXX01.0005 grouped ten isolated samples of human origin and, in the COIN15JEXX01.0006 the remaining isolated samples. All isolated samples were confirmed with *BlnI* enzyme, four of them were matched with a 95,65% of similarity in the pattern COIN15JEXA26.002 (three human and food isolates).

Conclusion: This study confirmed that canned sardines were related to the transmission of *S. Give* in the outbreak. This is the third outbreak caused by this serotype in Colombia.

Key words: *Salmonella*; disease outbreak; foodborne illness; epidemiological monitoring; Colombia.

A nivel mundial las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) constituyen un problema de salud pública creciente, con una incidencia difícil de estimar. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2015 señaló que anualmente se enferman unos 600 millones de personas en el mundo (uno por cada diez habitantes) al ingerir alimentos contaminados (virus, bacterias, parásitos o agentes químicos) y se reportaron cerca de 420.000 muertes en 2010; siendo los niños menores de 5 años quienes soportaron el 40% de la mortalidad atribuible a las ETA, con 125.000 defunciones. Dentro de los agentes asociados a ETA se estima que 230.000 muertes fueron ocasionadas por *Salmonella* enterica no tifoidea (1).

En Colombia, en el año 2015 se notificaron al Sivigila 10.243 casos de ETA involucrados en 858 brotes, de los cuales el grupo de edad más afectado fue el de 10 a 14 años, con una tasa de morbilidad a nivel nacional de 21,01 casos por 100.000 habitantes. Del total de brotes con agente etiológico identificado, 162 provenían de muestras de alimentos o agua, superficies y 119 de muestras biológicas entre los que se identificó como agente causal bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., y *Aeromonas hydrophila*), virus, parásitos y organofosforados (2).

Dentro de los serotipos de *Salmonella* spp. causantes de ETA se encuentra *S. Give* relacionada con rumiantes y animales para consumo, pero rara vez en huéspedes humanos (3). Para el año 1996 la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica de España reportó la presencia de *S. Give* en 3 de 881 aislamientos no humanos; uno de alimento (carne) y dos del ambiente (agua de río

y de mar) (4). En Francia durante el año 2008, se presentó un brote de *S. Give* en lactantes asociado al consumo de leche en polvo (5). En el año 2012, Borriello *et al.* evidenciaron una prevalencia de *Salmonella* spp. del 25% en terneros de búfalo acuático (*Bubalus bubalis*) con gastroenteritis; entre los que se destacó *S. Give* (11%) (6). En el año 2015 en los Estados Unidos, Maurer *et al.* estudiaron muestras de agua y mamíferos pequeños en dos áreas geográficas (planicie costera y pie de monte), se encontraron 37 serotipos entre los que se encuentra *S. Give* ubicado en las dos cuencas (7).

En Colombia, en el marco de la Vigilancia por Laboratorio de Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) y ETA, el Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud (INS) caracteriza los aislamientos de *Salmonella* spp. remitidos por los Laboratorios de Salud Pública, el análisis de la distribución de los aislamientos clínicos por serotipos de 2000 a 2013 ubicó a *S. Give* en el puesto 11, con 96 aislamientos (1,3%) de un total de 7.219; en cuanto a la distribución de los aislamientos provenientes de muestras de alimentos enviadas al INS, *S. Give* se ubicó en el lugar 18 con dos aislamientos provenientes de carne de res y queso (Datos no publicados Base de Datos Microbiología INS) (1,0%) de un total de 205 (8).

A continuación, se presenta el estudio de un brote de ETA en una población humana causado por *S. Give*, en el departamento de Vichada en la semana epidemiológica cinco del año 2015.

Materiales y métodos

Descripción del brote

El día 26 de enero de 2015 se presentó un brote de ETA, en trabajadores de una finca agrícola, ubicada en zona rural del municipio de La Primavera, Departamento de Vichada, Colombia. Ochenta personas consumieron alimentos entre los que se incluían sardinas enlatadas, pollo y agua de acequia, 45 desarrollaron síntomas y 37 muestras de materia fecal fueron remitidas al Grupo de Microbiología del INS para estudio. Los casos se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública–Sivigila, a través de las fichas de notificación para Enfermedades Transmitidas por Alimentos, Código INS: 355 (Notificación individual) y 350 (Notificación colectiva).

Investigación de campo

La búsqueda de información del evento se realizó a través del Anexo 2 ETA, encuesta a consumidores siguiendo los criterios establecidos por el INS (<http://www.ins.gov.co/Direcciones/Vigilancia/Paginas/Lineamientos-y-documentos.aspx>); la cual fue aplicada por la Secretaría de Salud del Departamento de Vichada; el instrumento aplicado compiló datos sociodemográficos como edad, sexo, fecha de notificación del caso, signos, síntomas, lugar de consumo y alimentos consumidos, entre otros.

Durante la visita se realizó la inspección, vigilancia y control del evento, se aplicaron medidas sanitarias y se asoció al mismo el consumo de los siguientes alimentos: latas de sardinas, pollo y agua de acequia, de los que sólo se recolectaron muestras de las latas de sardinas; las cuales fueron remitidas al Laboratorio Departamental de Salud Pública (LDSP) y al Instituto Nacional de

Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), para el desarrollo de análisis microbiológicos.

El Grupo de Microbiología del INS, recibió 37 muestras de materia fecal en medio de transporte Cary-Blair (BD BBL, USA) provenientes del Laboratorio de Salud Pública de Vichada para la identificación del agente etiológico y su posterior caracterización fenotípica y genotípica.

Caracterización fenotípica y genotípica de las muestras

Aislamiento bacteriano. Muestras clínicas: Se analizaron 37 muestras de materia fecal preservadas en medio de transporte Cary-Blair, siguiendo el método de ensayo del INS (MEN-R01.5330-002). Brevemente, se realizó el pre-enriquecimiento de la muestra en caldo selenito, el cual se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 8 horas, posteriormente se realizó siembra por agotamiento en los medios selectivos XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) y Hecktoen (HE) seguida de una incubación de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Se realizó la identificación empleando el equipo Semi-Automatizado MicroScan® autoScan-4, con el panel NUC60 (SIEMENS).

Muestras de alimentos: De acuerdo con la normatividad sanitaria vigente, los alimentos enlatados deben someterse a la prueba de esterilidad comercial, pero en este caso, dado que la muestra se encontraba implicada en una ETA, se realizaron análisis para *Salmonella* spp., siguiendo la metodología descrita en la Norma ISO 6579:2002 cor 1:2004 (9) acreditada ante ONAC, en la cual se seleccionarán 3 colonias del aislamiento primario. Una porción de 25 g de la muestra se transfirió asépticamente a una bolsa con 225 ml de agua peptonada tamponada y se incubó a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas, posteriormente se realizó un enriquecimiento selectivo en caldo Rapaport Vassiliadis y caldo Mueller

Kauffmann con tetracionato incubados a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por $24 \pm 3\text{h}$ y de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por $24 \pm 3\text{h}$ respectivamente, para el aislamiento bacteriano se emplearon los agares selectivos XLD y HE a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas, y la identificación se realizó usando el sistema de pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias API 20E®.

Determinación del serotipo. La serotipificación de los aislamientos clínicos de *Salmonella* spp, se realizó a través de PCR en tiempo real (MRT-PCR, por sus siglas en inglés), siguiendo el protocolo estandarizado por Muñoz y Colaboradores en el 2010 (10). A los aislamientos confirmados como grupo E (Factor O:3,10), se les determinaron los antígenos flagelares “H”, siguiendo el esquema de Kauffmann-White-Le Minor (11) evidenciándose floculación en medio líquido (12,13); mientras que para el aislamiento del alimento solo se empleó el esquema de Kauffmann-White-Le Minor.

Susceptibilidad antimicrobiana. A los aislamientos recuperados de muestras clínicas se les realizó el análisis de susceptibilidad antimicrobiana a 25 antibióticos, empleando el equipo Semi-Automatizado MicroScan® autoScan-4 (Siemens), con el panel NUC60 (Siemens).

A los aislamientos recuperados de muestras del alimento, la susceptibilidad antimicrobiana se determinó con el panel NMIC/ID-132 (Becton, Dickinson and Company), en el que se evaluaron 20 antibióticos, utilizando el equipo Phoenix 100 (Becton, Dickinson and Company).

Caracterización molecular de *Salmonella* spp. Los aislamientos identificados como *S. Give* se analizaron por electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) con las enzimas de restricción *Xba*I (Promega, USA) y *Bln*I (Roche) para determinar su perfil genómico a través del patrón de bandeo, siguiendo el

protocolo de la Red PulseNet (CDC, Atlanta). Como marcador de peso molecular se empleó *Salmonella* Braenderup H9812, el análisis de los geles se realizó con el programa Gel compare II, versión 4.0; empleando el Coeficiente de Dice, algoritmo de emparejamiento de bandas con base en promedios aritméticos-UPGMA, obteniendo los dendogramas respectivos (14).

El patrón de bandas se comparó con la Base de Datos Regional para América Latina y Caribe, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán”, Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv.

Resultados

Descripción del brote. El primer caso fue reportado el día 26 de enero de 2015 y el último dos días después. La información obtenida a través de la encuesta a consumidores permitió identificar en la curva epidémica tres horas como periodo de incubación más corto y 53 horas como periodo de incubación más largo, siendo a las 29 horas el periodo donde se presentó el mayor número de casos (n=10) (figura 1). El 95,5% de los afectados presentaron diarrea, 84,4% vómito, 80% náuseas y deshidratación, entre otros síntomas (

Cuadro 1). El análisis de distribución por grupos de edad mostró que, de las 45 personas relacionadas con el brote, el mayor número de afectados se encontraba entre los 20 y 24 años (20%), el 93,3% de la población correspondió al sexo masculino (Cuadro 2).

Investigación de campo. De los 45 trabajadores afectados por el brote, 25 fueron atendidos en el hospital local del municipio de La Primavera, el 79% estuvieron en observación y no requirieron hospitalización, el otro 21% no necesitó ningún procedimiento médico. Los 20 pacientes restantes fueron atendidos en el hospital local del municipio de Santa Rosalía, el 65% fueron hospitalizados, los demás

fueron atendidos por consulta externa, se rehidrataron y se mantuvieron en observación.

El reporte de la situación sanitaria en el lugar determinó varios incumplimientos a lo establecido en la normatividad vigente (Decreto 3075 de 1997 y Resolución 2674 de 2013), en relación con las condiciones básicas de higiene en la fabricación de alimentos, edificación en instalaciones, equipos y utensilios, personal manipulador de alimentos y saneamiento. Los alimentos provenían de la ciudad de Villavicencio (Meta) y fueron transportados sin las condiciones adecuadas de conservación. Por todo lo anterior, los organismos de vigilancia y control aplicaron medidas de seguridad al establecimiento por incumplimiento de los requisitos normativos, como la suspensión parcial o total de la fabricación de alimentos y la destrucción total del alimento implicado.

Posterior a esta medida, se elaboró un plan de mejora en relación con el establecimiento (infraestructura) y se realizaron capacitaciones en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) al personal manipulador residente en los municipios de Puerto Carreño y La Primavera. Los compromisos adquiridos fueron verificados a través de visitas de seguimientos realizadas por las entidades competentes.

Caracterización fenotípica de los aislamientos. El 29,7% (11/37) de las muestras de origen humano fueron positivas para *Salmonella* spp. La PCR en tiempo real mostró resultados positivos para el antígeno somático E (Factor O:3,10) y siguiendo el esquema de Kauffmann-White-Le Minor se determinaron las fases flagelares I,v:1,7 correspondientes al serotipo Give (fórmula antigénica 3,10: I,v: 1,7). Los aislamientos fueron sensibles a todos los antimicrobianos evaluados

(MicroScan®) incluyendo tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol, ampicilina, cefotaxima y ceftazidima considerados de alta importancia en salud pública.

Las 3 colonias analizadas del aislamiento primario obtenido de una lata de sardinas fueron identificadas como *Salmonella* spp., y por serología como *S. Give* (fórmula antigénica 3,10: I, v: 1,7), con resistencia a tetraciclina. No se identificó la presencia de otro patógeno en el alimento estudiado.

Caracterización molecular. El análisis comparativo por PFGE realizado a 11 aislamientos humanos y a uno de alimento con la enzima *XbaI*, mostró al patrón COIN15JEXX01.0005 con 13 bandas, agrupando 10 de los 11 aislamientos de humanos (90,9%). El aislamiento de origen humano restante presentó el patrón COIN15JEXX01.0006 con 12 bandas; se obtuvo una similitud genética del 96% entre los dos grupos mencionados. El aislamiento de las sardinas enlatadas correspondió al patrón COIN15JEXX01.0006. El análisis por PFGE con la enzima secundaria *BlnI* mostró dos patrones, el COIN15JEXA26.0002 con 11 bandas que agrupó 4 aislamientos (3 provenientes de humanos y el del alimento) y el COIN15JEXA26.0003 con 12 bandas que agrupó los 8 aislamientos humanos restantes, con un 95,65% de similitud genética (figura 2a.). Estos resultados indican que los 12 aislamientos estudiados están estrechamente relacionados y hacen parte del mismo brote. La relación encontrada entre el genotipo aislado de las sardinas enlatadas y los aislamientos de origen humano permiten identificar este alimento como la fuente de infección con *S. Give*.

La comparación del patrón único COIN15JEXX01.0006 correspondiente a un aislamiento de origen humano de *S. Give* con la Base de Datos Regional (BDR) mostró un 90,61% de similitud con un aislamiento del mismo origen proveniente de

Paraguay (ARG_207/08) remitido en el año 2008 (patrón único de bandas ALJEXX01.0002) (figura 2b).

Discusión

S. Give se ha relacionado principalmente con rumiantes, cerdos, aves silvestres, ambientes acuáticos y rara vez con huéspedes humanos (3,4,6,15). Entre los brotes humanos conocidos se encuentran el brote multiestado de Alemania en el año 2004, asociado al consumo de cerdo crudo picado (16) y; el brote de Francia en el año 2008 en lactantes asociado al consumo de leche en polvo (5).

De acuerdo con la base de datos de la vigilancia por laboratorio que adelanta el Grupo de Microbiología del INS desde 1997; este es el tercer brote causado por *S. Give* en una población colombiana. Los brotes de *S. Give* previamente reportados para Colombia, se presentaron en los departamentos del Huila y Quindío en los años 2008 y 2012, respectivamente, en ninguno de los casos se colectó el alimento implicado. En el primero, fueron afectadas 23 personas, el análisis por PFGE de 11 aislamientos exhibió los patrones únicos para la enzima *XbaI* COIN.JEX.X01.0001 y para la enzima *BlnI* COIN.JEX.A26.0001 (8); el segundo brote tuvo tres afectados con el patrón único para la enzima *XbaI* COIN12JEXX01.0006 (Grupo de Microbiología del INS. Datos no publicados). Debido a que el patrón de PFGE-*XbaI* COIN15JEXX01.0006 asoció un aislamiento humano con el recuperado de las sardinas enlatadas con solo una banda de diferencia en el patrón electroforético, de acuerdo con los criterios aceptados para la confirmación de un brote, los aislamientos se clasificaron como estrechamente relacionados con la cepa del brote (aislamiento del alimento) (17); lo cual fue corroborado con el análisis comparativo de PFGE-*BlnI* (patrón

COIN.JEX.A26.0001). El análisis de PFGE por serotipo con dos enzimas de restricción *Xba*I y *Bln*I que reconocen y cortan el ADN en sitios específicos, secuencias TCTAGA y CCTAGG, respectivamente (18); permite obtener una mayor exactitud para establecer relaciones genéticas entre los aislamientos de un brote y el seguimiento epidemiológico molecular (19,20). Nuestros resultados muestran una relación estrecha entre la población afectada y el consumo de las sardinas enlatadas sugerida por la investigación de campo; lo que permite señalar que los aislamientos estudiados probablemente son parte de este brote; además, por nexo epidemiológico el patrón de restricción de PFGE del alimento fue designado como patrón del brote. Es posible inferir que la diferencia identificada en los patrones únicos obtenidos con las enzimas de restricción probablemente se deba a una mutación esporádica en la cepa del brote (17,21).

El patrón PFGE-*Xba*I COIN15JEXX01.0006 identificado en las sardinas y en uno de los aislamientos clínicos en este brote, coincidió con los aislamientos provenientes del brote ocurrido en el año 2012 en el departamento del Quindío, lo que sugiere la circulación de este patrón en el tiempo y en otras regiones del país, lo anterior puede atribuirse a su naturaleza ambiental y zoonótica, permitiéndole diseminarse de animales a humanos (7).

En el marco de la vigilancia de alimentos realizada por el laboratorio del INVIMA desde el año 2011, *S. GIVE* representa el 1,4% del total de serotipos aislados y se encuentra asociado a muestras de cárnicos (datos no publicados). Los productos enlatados están sujetos a controles estrictos en su elaboración y empaque; sin embargo, su conservación juega un papel fundamental en el mantenimiento de su calidad. Generalmente las sardinas enlatadas se han relacionado a contaminantes

diferentes a los biológicos (22-24); por esta razón este es el primer reporte de contaminación por *S. Give* en el país en un producto enlatado. Resultado directamente relacionado con su estado de conservación, pues se evidenciaron filtraciones y abolladuras en su empaque y, teniendo en cuenta que la edificación no protegía el ambiente de producción de la entrada de contaminantes tanto físicos (aire, agua, polvo) como biológicos (silvestres y domésticos), es posible inferir que la contaminación de la lata de sardinas por *S. Give* provenga del contacto directo con alguna especie animal (no identificada) que pudo estar infectada o que actuó como vehículo de contaminación ambiental; lo cual concuerda con los reportes de la asociación de *S. Give* con animales y ambientes acuáticos (3,4,6,7,25-29).

El análisis de los resultados epidemiológicos, microbiológicos y moleculares permiten señalar que la fuente más probable de infección con *S. Give*, en los trabajadores afectados por el brote fueron las sardinas enlatadas; sin embargo, no fue posible determinar la forma en la que el alimento se contaminó con este serovar.

A excepción del aislamiento proveniente del alimento el cual fue resistente a tetraciclina, todos los aislamientos de origen humano fueron sensibles a los antimicrobianos contenidos en el panel NUC60, lo que puede atribuirse a bajos niveles de exposición que no inducen una respuesta adaptativa a nivel de intercambio o adquisición genes de resistencia (30). *S. Give* fue el principal serovar encontrado en un estudio realizado en Costa Rica exhibiendo altas tasas de resistencia a tetraciclina-TE en un producto utilizado para alimentación animal a

base de harina de carne y huesos (31), otros estudios documentan la resistencia a cefalosporinas y monobactámicos (32).

La BDR de patrones de PFGE de la red PulseNet Latinoamérica y el Caribe (PNLAC); reúne aproximadamente 8.600 casos/brotos que circulan en los países miembros, este registro ha permitido fortalecer la vigilancia nacional y regional con fines de prevención, control e investigación de brotes (33); para ello los dos patrones de PFGE-*Xba*I obtenidos fueron compartidos en la BDR. El análisis comparativo de los patrones del brote mostró similitud con un aislamiento de Paraguay (90,6%) aislado en 2007, lo que permite suponer una posible relación genética entre los aislamientos.

El presente brote se constituye en el primer reporte en el país de contaminación por *S. Give* en un producto enlatado; su estudio contribuye al conocimiento de este serovar como un agente causante de brotes de ETA y de las medidas aplicadas para controlar y prevenir su propagación en la población afectada.

Agradecimientos

A la Secretaría Departamental de Salud y Laboratorio Departamental de Salud del Departamento de Vichada. Al Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas (LMAB)/INVIMA por el DMF que permitieron el aislamiento del patógeno presente en el alimento. A Adriana Marcela Bautista del Grupo de Microbiología-DRSP/INS por el apoyo con el DMM. Al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán”, Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv. por su apoyo en la comparación con la Base de Datos Regional de *Salmonella* spp. a través de la Red PulseNet para América Latina y Caribe.

A Claudia Álvarez de la ERIA-DVARSP/INS por la revisión del AE.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Financiación

Secretaría Departamental de Salud del Departamento de Vichada.

Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Bebidas (LMAB) Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

Grupo de Microbiología, Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia e Investigación Científica y Tecnológica del Instituto Nacional de Salud (INS).

Proyecto 757 Colciencias “Fortalecimiento de la capacidad diagnóstica, de investigación y de vigilancia de enfermedades transmisibles emergentes y reemergentes en Colombia”.

Referencias

1. World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. Geneva: WHO; 2015.p. 268.
2. Guerrero Montilla JA. Informe final del evento enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2015. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2016. p. 17. Fecha de consulta: 5 de septiembre de 2019. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ETA%202015.pdf>
3. Girardin F, Mezger N, Hächler H, Bovier PA. *Salmonella* serovar Give: An unusual pathogen causing splenic abscess. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006;25:272-4. <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0122-2>
4. Usera MA, Aladueña A, Díez R, Cerdán P, Gutiérrez R, Echeita A. Análisis

de los serotipos de de *Salmonella* sp aisladas de muestras no humanas en 1996 en España. Vol. 5. Boletín Epidemiológico Semanal. España: Instituto de Salud Carlos III; 1997. p. 69-80. Fecha de consulta: incluir día, mes y año. Disponible en: http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo450.pdf

5. Jourdan N, Hello S Le, Delmas G, Clouzeau J, Manteau C, Désaubliaux B, et al. Nationwide outbreak of *Salmonella* enterica serotype Give infections in infants in France, linked to infant milk formula, September 2008. Eurosurveillance. 2008;13:1-2. <https://doi.org/10.2807/ese.13.39.18994-en>
6. Borriello G, Lucibelli MG, Pesciaroli M, Carullo MR, Graziani C, Ammendola S, et al. Diversity of *Salmonella* spp. serovars isolated from the intestines of water buffalo calves with gastroenteritis. BMC Vet Res. 2012;8:1-9. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-201>
7. Maurer JJ, Martin G, Hernandez S, Cheng Y, Gerner-Smidt P, Hise KB, et al. Diversity and persistence of *Salmonella* enterica strains in rural landscapes in the southeastern United States. PLoS One. 2015;10:1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128937>
8. Instituto Nacional de Salud. Características de los aislamientos de *Salmonella* spp. Colombia Resultados de la vigilancia 2000-2013. p. 1–31. Fecha de consulta: 17 de noviembre de 2019. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Salmonella%20spp%202000-2013.pdf>
9. International Standard ISO. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp (ISO 6579:2002).

Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2016. Disponible en:

<https://www.iso.org/standard/40377.html>

10. Muñoz N, Diaz-Osorio M, Moreno J, Sánchez-Jiménez M, Cardona-Castro N. Development and evaluation of a multiplex real-time polymerase chain reaction procedure to clinically type prevalent *Salmonella* enterica serovars. *J Mol Diagnostics*. 2010;12:220-5.
<https://doi.org/10.2353/jmoldx.2010.090036>
11. Grimont PA, Weill F-X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, editor. Paris: Institute Pasteur; 2007. p. 1-166 .
12. Caffer MI, Terragno R. Manual de Procedimientos para la Caracterización de *Salmonella*. Vol. 1. Buenos Aires: Ministerio de Salud; 2001. p. 1-37 **Fecha de consulta: incluir día, mes y año**. Disponible en:
<https://docplayer.es/12601568-Manual-de-procedimientos-para-la-caracterizacion-de-salmonella.html>
13. Realpe M, Montaña LA. Manual de procedimientos para el diagnóstico bacteriológico de enfermedad diarreica bacteriana aguda, identificación de *Salmonella* spp., *Shigella* sp., y *Vibrio cholerae*. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2015.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* [Internet]. CDC PulseNet. PNL05 Last Updated December 2017. p. 1–16.
Fecha de consulta: 17 de julio de 2019. Disponible en:

<https://www.cdc.gov/pulsenet/PDF/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>

15. Roy R, Higgins R, Fortin M, Tardif S. *Salmonella* Give infection in 2 dairy herds. *Can Vet J*. 2001;42:468-70.
16. Jansen A, Frank C, Prager R, Oppermann H, Stark K. Bundesweiter Ausbruch durch *Salmonella* Give in Deutschland im Jahr 2004. Nation-wide Outbreak of *Salmonella* Give in Germany, 2004. *Z Gastroenterol*. 2005;43:707-13. <https://doi.org/10.1055/s-2005-858256>
17. Tenover FC, Arbeit RD, Goering R V, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol*. 1995;33:2233-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.33.9.2233-2239.1995>
18. McClelland M, Jones R, Patel Y, Nelson M. Restriction endonucleases for pulsed field mapping of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*. 1987;15:5985-6005. <https://doi.org/10.1093/nar/15.15.5985>
19. Ribot EM, Fair MA, Gautom R, Cameron DN, Hunter SB, Swaminathan B, et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. *Foodborne Pathog Dis*. 2006;3:59-67. <https://doi.org/10.1089/fpd.2006.3.59>
20. Zheng J, Keys CE, Zhao S, Ahmed R, Meng J, Brown EW. Simultaneous analysis of multiple enzymes increases accuracy of pulsed-field gel electrophoresis in assigning genetic relationships among homogeneous *Salmonella* strains. *J Clin Microbiol*. 2011;49:85-94.

<https://doi.org/10.1128/JCM.00120-10>

21. Goering RV, Tenover FC. Epidemiological interpretation of chromosomal macro-restriction fragment patterns analyzed by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2432-3.
<https://doi.org/10.1128/JCM.35.9.2432-2433.1997>
22. Galitsopoulou A, Georgantelis D, Kontominas M. The influence of industrial-scale canning on cadmium and lead levels in sardines and anchovies from commercial fishing centres of the Mediterranean Sea. *Food Addit Contam Part B Surveill.* 2012;5:75-81. <https://doi.org/10.1080/19393210.2012.658582>
23. Mol S. Levels of heavy metals in canned bonito, sardines, and mackerel produced in Turkey. *Biol Trace Elem Res.* 2011;143:974-82.
<https://doi.org/10.1007/s12011-010-8909-5>
24. Shiber JG. Arsenic, cadmium, lead and mercury in canned sardines commercially available in eastern Kentucky, USA. *Mar Pollut Bull.* 2011;62:66-72. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.09.008>
25. Castillo A, Mercado I, Lucia LM, Martínez-Ruiz Y, Ponce De León J, Murano EA, et al. *Salmonella* contamination during production of cantaloupe: A binational study. *J Food Prot.* 2004;67:713-20. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.713>
26. Higgins R, Désilets A, Cantin M, Messier S, Khakhria R, Ismaïl J, et al. Outbreak of *Salmonella* Give in the Province of Quebec. *Can Vet J.* 1997;38:780-1.
27. Jiménez M, Martínez-Urtaza J, Rodríguez-Alvarez MX, Leon-Felix J, Chaidez C. Prevalence and genetic diversity of *Salmonella* spp. in a river in a tropical

environment in Mexico. J Water Health. 2014;12:874-84.

<https://doi.org/10.2166/wh.2014.051>

28. Tracogna MF, Lösch LS, Alonso JM, Merino LA. Detection and characterization of *Salmonella* spp. in recreational aquatic environments in the Northeast of Argentina. Rev Ambient Agua. 2013;8:18-26. h
<https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1145>
29. Traoré O, Nyholm O, Siitonen A, Bonkougou IJO, Traoré AS, Barro N, et al. Prevalence and diversity of *Salmonella* enterica in water, fish and lettuce in Ouagadougou, Burkina Faso. BMC Microbiol. 2015;15:1-7.
<https://doi.org/10.1186/s12866-015-0484-7>
30. Fletcher S. Understanding the contribution of environmental factors in the spread of antimicrobial resistance. Environ Health Prev Med. 2015;20:243-52. <https://doi.org/10.1007/s12199-015-0468-0>
31. Molina A, Granados-Chinchilla F, Jiménez M, Acuña-Calvo MT, Alfaro M, Chavarría G. Vigilance for *Salmonella* in feedstuffs available in Costa Rica: Prevalence, serotyping and tetracycline resistance of isolates obtained from 2009 to 2014. Foodborne Pathog Dis. 2016;13:119-27.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2050>
32. González F, Araque M. Association of transferable quinolone resistance determinant *qnrB19* with extended-spectrum β -lactamases in *Salmonella* GIVE and *Salmonella* Heidelberg in Venezuela. Int J Microbiol. 2013;2013:6.
<https://doi.org/10.1155/2013/628185>
33. Chinen I, Campos J, Dorji T, Pérez Gutiérrez E. PulseNet Latin America and the Caribbean Network: Present and Future. Foodborne Pathog Dis.

2019;16:489-97. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2587>

Cuadro 1. Distribución de signos y síntomas, brote ETA, La Primavera, Vichada, 2015.

Síntomas	N° de casos	Porcentaje (%)
Diarrea	43	95,6
Vómito	38	84,4
Náuseas	36	80,0
Deshidratación	36	80,0
Fiebre	30	66,7
Cefalea	21	46,7
Artralgias	14	31,1
Calambres abdominales	12	26,7
Mialgias	11	24,4
Mareos	11	24,4

Cuadro 2. Porcentaje de enfermos por grupo de edad brote ETA, La Primavera, Vichada, 2015.

Grupo de edad	Total	Hombre	% enfermos	Mujer	% enfermos
15 a 19	3	2	66,67	1	33,33
20 a 24	9	9	100	0	0
25 a 29	7	7	100	0	0
30 a 34	3	2	66,67	1	33,33
35 a 39	3	3	100	0	0
40 a 44	7	6	85,71	1	14,29
45 a 49	7	7	100	0	0
50 a 54	1	1	100	0	0
55 a 59	3	3	100	0	0
> 60 años	2	2	100	0	0
Total	45	42	93,33	3	6,67

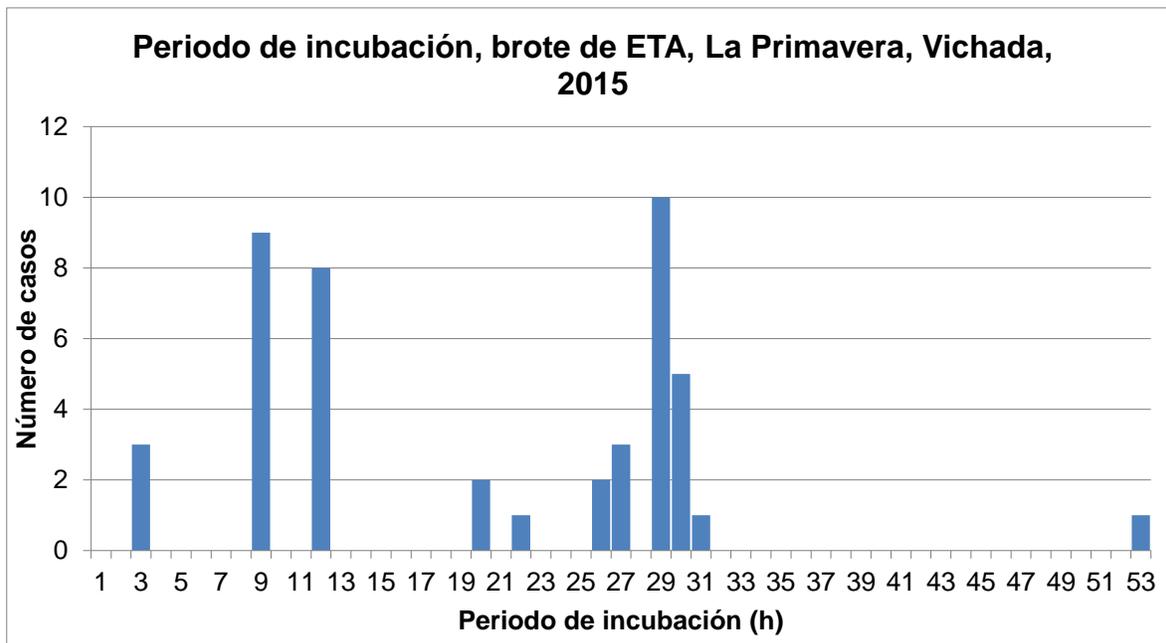


Figura 1. Periodo de incubación, brote ETA, La Primavera, Vichada. 2015. (h): horas.

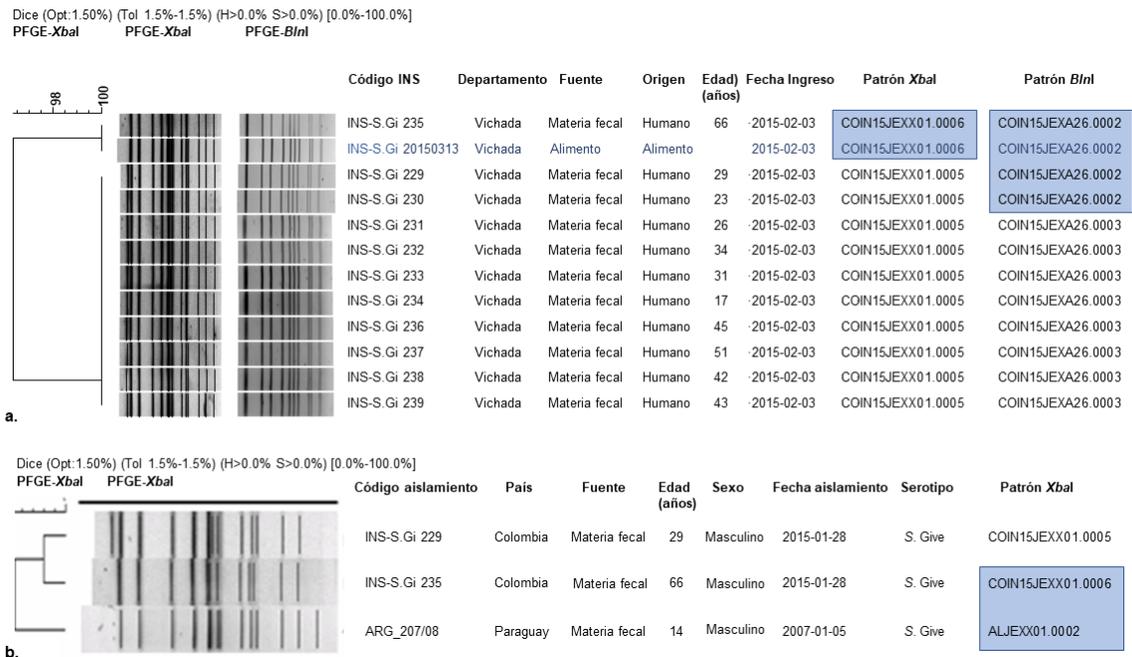


Figura 2. En **a.** Dendrograma PFGE XbaI-BlnI de la relación genética de los aislamientos del brote de *S. Give*, municipio La Primavera, departamento del Vichada, Colombia, 2015. En **b.** Dendrograma PFGE XbaI de comparación con la Base de Datos Regional (BDR) para PulseNet América Latina y el Caribe, de la relación genética de los aislamientos del brote de *S. Give*, municipio La Primavera, departamento del Vichada, Colombia, 2015.

Descripción código patrón de PFGE. COIN: Instituto Nacional de Salud; 15: año 2015; JEX: *Salmonella Give*; XO1: Enzima XbaI; A26: Enzima BlnI; 0005, 000