

**CARACTERIZACIÓN POLIFÁSICA DE *Salmonella* spp. AISLADA
DE CAMPOS AGRÍCOLAS DE MELÓN (*Cucumis melo*) Y CILANTRO
(*Coriandrum sativum*)**

Evelia Acedo-Félix, Yolanda Núñez-Hernández, Rosalva Pérez-Morales,
Claudia M. Iñiguez-Palomares y Lucía Castellón-Campaña

RESUMEN

Se evaluó la diversidad serológica y genética de cepas de *Salmonella* spp. aislada de campos de cultivo de melón Cantaloupe (*Cucumis melo*) y cilantro (*Coriandrum sativum*). Para identificar al patógeno se realizaron pruebas bioquímicas, serología, susceptibilidad a antibióticos y caracterización por PFGE. Se encontraron 11 muestras contaminadas de los campos de cilantro y 7 de los de melón. Se aisló *Salmonella* anatum y *S. give*, principalmente. Solo una de las cepas presentó resistencia a tobramicina. El PFGE mostró que cepas del mismo serogru-

po, produjeron patrones electroforéticos similares y el análisis polifásico desplegó cinco grupos distintos con similitud menor al 35%. Es necesario intensificar las buenas prácticas agrícolas y de producción, ya que los serogrupos identificados han sido involucrados en brotes epidémicos. Por otro lado, el análisis polifásico mostró variabilidad genómica y además permite suponer que las cepas de *S. give* son clonales, no así para *S. anatum*, que estuvo presente en diferentes muestras.

Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) solían asociarse al consumo de alimentos de origen animal. Sin embargo, los brotes relacionados con los alimentos de origen vegetal son cada vez más comunes. En Estados

Unidos, la incidencia de ETAs está frecuentemente asociada al consumo de frutas y verduras frescas, tanto de origen doméstico como de importación. La contaminación de los vegetales proviene principalmente de los utensilios para pelarlos y cortarlos, agua de riego y tierra de cultivo

(Brandl y Mandrell, 2002).

En los últimos 18 años, tanto en México como a nivel internacional, se han producido epidemias que se relacionan con melones Cantaloupe y varios serotipos de *Salmonella*. Algunos de los frutos cosechados en México han sido involucrados con brotes

epidémicos por *S. chester* y en Texas se han asociado con gastroenteritis por *S. poona*. En ambos casos, la causa fue el consumo de ensaladas de frutas frescas (CDC, 2002). Bowen *et al.* (2005) realizaron una revisión completa donde se encontró que de 1984 a 2002, se presentaron 23 epi-

PALABRAS CLAVE / Caracterización polifásica / *Coriandrum sativum* / *Cucumis melo* / *Salmonella* spp. /

Recibido: 24/09/2008. Modificado: 23/05/2009. Aceptado: 26/05/2009.

Evelia Acedo-Félix. Doctora en Ciencias, Universidad de Valencia, España. Investigador, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD) Dirección: Carr. a la Victoria Km 0.6, Apdo. postal

1735. Hermosillo, Sonora. México. e-mail: evelia@ciad.mx
Yolanda Núñez-Hernández. Química-Bióloga, Universidad de Sonora (UniSon), Verificadora, Secretaría de Salud, Sonora, México.

Rosalva Pérez-Morales. Química-Bióloga, Unison, México. Técnico, CIAD, Hermosillo, México.
Claudia M. Iñiguez-Palomares. Doctora en Ciencias y Posdoctorante, CIAD, Hermosillo, México.

Lucía Castellón-Campaña. Química-Bióloga, Unison, México. Docente, Unison, México.

POLYPHASIC TYPING OF *Salmonella* spp. ISOLATED FROM CANTALOUPE MELON (*Cucumis melo*) AND CORIANDER (*Coriandrum sativum*) FIELDS

Evelia Acedo-Félix, Yolanda Núñez-Hernández, Rosalva Pérez-Morales, Claudia M. Iñiguez-Palomares and Lucía Castellón-Campaña

SUMMARY

The serological and genetic diversity of *Salmonella* spp. strains isolated from Cantaloupe melon (*Cucumis melo*) and coriander (*Coriandrum sativum*) fields were evaluated. Biochemical test, serology, antibiotic resistance and PFGE were performed to identify isolated strains. Eleven contaminated samples from coriander fields were found, and seven from melon fields. The serogroups identified were mainly *Salmonella* anatum and *S. give*. Only one strain was resistant to tobramycin. PFGE showed five

electrophoretic profiles, in agreement with the identified serotypes and in the polyphasic analysis five clusters were observed (<35% similarity). It is necessary to implement good agricultural and production practices, since identified serogroups have been involved in epidemic outbreaks. Moreover, the polyphasic analysis showed genomic variability and also suggests that strains of *S. give* are clonal. It is not the same for *S. anatum* strains, which were isolated from different samples.

CARACTERIZAÇÃO POLIFÁSICA DE *Salmonella* spp. ISOLADA DE CAMPOS AGRÍCOLAS DE MELÃO (*Cucumis melo*) E COENTRO (*Coriandrum sativum*)

Evelia Acedo-Félix, Yolanda Núñez-Hernández, Rosalva Pérez-Morales, Claudia M. Iñiguez-Palomares e Lucía Castellón-Campaña

RESUMO

Avaliou-se a diversidade sorológica e genética de cepas de *Salmonella* spp. isolada de campos de cultivo de melão Cantalupo (*Cucumis melo*) e coentro (*Coriandrum sativum*). Para identificar ao patógeno foram realizadas provas bioquímicas, sorologia, suscetibilidade a antibióticos e caracterização por PFGE. Encontraram-se 11 amostras contaminadas dos campos de coentro e 7 dos de melão. Isolou-se *Salmonella* anatum e *S. give*, principalmente. Somente uma das cepas apresentou resistência à tobramicina. O PFGE mostrou que cepas do mes-

mo sorogrupo, produziram padrões eletroforéticos similares e a análise polifásica despreendeu cinco grupos distintos com similitude menor a 35%. É necessário intensificar as boas práticas agrícolas e de produção, já que os sorogrupos identificados têm sido envolvidos em surtos epidêmicos. Por outro lado, a análise polifásica mostrou variabilidade genômica e além disso permite supor que as cepas de *S. give* são clonais, não sendo assim para *S. anatum*, que esteve presente em diferentes amostras.

demias en que 1434 personas enfermaron, 42 de ellas requirieron hospitalización y dos murieron. Los agentes etiológicos incluyeron cinco serogrupos de *S. enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7 y norovirus. El cilantro (*Coriandrum sativum*), se ha visto involucrado en menos ocasiones con brotes epidémicos que el melón; sin embargo, un brote por *S. thompson* debido al consumo de salsa en un restaurante ha sido registrado (Campbell *et al.*, 2001).

Por otra parte, la diversidad entre las salmonelas ha sido estudiada usando varios métodos, como perfiles de resistencia antimicrobiana y tipeado de fagos, y por métodos genómicos, incluyendo electroforesis de campo pulsado (PFGE del inglés), polimorfismo de fragmentos amplificados (AFLP del inglés), análisis de perfiles de plásmidos, etc. La tipificación

genómica de *Salmonella* ha sido reconocida como una herramienta importante en epidemiología, ya que ayuda en la identificación de las fuentes de infección, la detección de contaminación cruzada, el reconocimiento de cepas particulares y el monitoreo de estrategias de intervención. Entre los métodos genómicos, la PFGE está considerada como el método estándar para el tipeado del ADN de *Salmonella* spp. y otros patógenos, por lo que ha sido propuesta como un sistema para diferenciar cepas epidémicas de las endémicas (Ben-nasar *et al.*, 2000; Bender *et al.*, 2001). El objetivo de este trabajo fue evaluar la diversidad serológica y genética de *Salmonella* spp. aislada de muestras ambientales (agua y tierra), melón Cantaloupe (*Cucumis melo*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) para determinar la clonalidad de las cepas identificadas.

Materiales y Métodos

Para los muestreos se seleccionaron dos campos agrícolas de melón de la Costa de Hermosillo y dos de cilantro ubicados en el poblado de Zamora, con una distancia de ~70km entre los dos sitios. Se tomaron 66 muestras de melón, 38 de cilantro, 21 de tierra y 52 de agua de riego. Las muestras fueron colectadas en bolsas de plástico estériles, de acuerdo a FDA (1998), las cuales fueron trasladadas en hieleras al laboratorio e inmediatamente procesadas.

Aislamiento e Identificación de *Salmonella* spp.

Se tomaron 25g o 25ml de cada muestra, que se agregaron a 225ml de caldo lactosado (Difco-Becton Dickinson & Co., Sparks, MD, EEUU) para realizar el pre-enriquecimiento, siguiendo el procedimiento descrito en la norma

SSA (1995). Después del aislamiento de las colonias puras, se seleccionaron al menos tres de cada placa para realizar la caracterización bioquímica de acuerdo a la norma anteriormente mencionada.

Detección por PCR

De las colonias sospechosas se amplificó un fragmento de 163pb del gen, que corresponde al origen de replicación del ADN de *Salmonella* spp., con los iniciadores Sal1 5'-TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3' y Sal2 5'-AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3'. Se utilizaron las condiciones de 94°C/1min, 50°C/1min y 72°C/1min, todo repetido por 36 ciclos (Espinoza *et al.*, 2006).

Serología

La determinación del serogrupo se realizó en el Instituto Nacional de Referencia Epide-

miológica (INDRE), México, por el método de aglutinación somática y flagelar (Popoff *et al.*, 1991).

Susceptibilidad antimicrobiana

Se analizó la susceptibilidad de las salmonelas a diferentes antibióticos de amplio espectro o específicos para bacterias gram negativas, por la técnica de difusión en agar Mueller-Hinton (Difco-Becton Dickinson & Co., Sparks, MD, EEUU), en NCCLS (2002). Se utilizaron discos de papel (Sensi-Disc) de la marca BD (Difco-Becton Dickinson) que incluyeron ampicilina 10µg (AM), ciprofloxacino 5µg (CIP), gentamicina 10µg (GE), tetraciclina 30µg (TE), sulfametoxazol-trimetoprima 23,75/1,25µg (SXT), ácido nalidíxico 30µg (NA), ceftriaxona 30µg (CRO), amikacina 30µg (AN), polimixina B 300U (PB), tobramicina 10µg (NN), Imipenem 10µg (IMN) y carbenicilina 100µg (CB).

Análisis de macrorestricción y PFGE

Para la purificación del ADN se embebieron las células de salmonela en agarosa de bajo punto de fusión (BMA, Rockland, MD, EEUU) y se utilizaron discos en los que se llevó a cabo una lisis de acuerdo a la técnica de Tenreiro *et al.* (1995). Cada disco de agarosa se digirió por separado con 10U de las enzimas de restricción *XbaI* y *SpeI* (New England Biolabs, EEUU). Los discos digeridos se colocaron en los pocillos del gel de agarosa (Seakem GTG; FMAC) al 1% y se realizó electroforesis de campo pulsado utilizando el sistema CHEF-MAPPER (Bio-Rad, Hercules, CA, EEUU) en buffer TBE 0,5X, a 14°C y voltaje de 6V·cm⁻².

La separación de los fragmentos de ADN se realizó utilizando un programa en dos fases. En la primera los tiempos de pulso aumentaron progresivamente de 5 a 30s por 78h y en la segunda, de 60 a 90s, por 9h. Se incluyó

un marcador de bajo peso molecular (Lambda Ladder PFG Marker, New England Bio-Labs). Los geles se tiñeron con bromuro de etidio (Bio-Rad) y se fotografiaron bajo luz ultravioleta (Fotodyne Inc.).

Análisis de resultados

La relación genómica de *Salmonella* spp. se estimó definiendo el número de bandas migrantes para cada una de las cepas, aplicando el coeficiente de similitud de Dice. Se incluyeron los resultados de la caracterización bioquímica y serológica. El dendrograma se calculó utilizando el método de medias aritméticas UPGMA (*Unweighted-Pair Group Method*), con el software BioNumerics (*Applied Maths* Ver. 3.0) y se determinó el porcentaje de similitud que existe entre cada una de las cepas aisladas de las diferentes muestras.

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp.

En la Tabla I se muestra las características de las cepas de *Salmonella* aisladas de los campos de melón y cilantro, así como el origen de las muestras contaminadas. Se aislaron 11 cepas de *Salmonella* a partir de las muestras del campo de cilantro y 7 del campo de melón. Las fuentes principales de contaminación en ambos casos fueron el agua de riego y la tierra, las cuales han sido reportadas como la principal fuente de contaminación de diferentes frutos y hortalizas. Gagliardi *et al.* (2003) realizaron un estudio para detectar la contaminación de melón Cantaloupe por *Salmonella* spp. en diferentes momentos del proceso poscosecha. Solo aislaron al patógeno del agua de riego y filtros, y suponen que la contaminación puede provenir de la fauna nativa de los campos agrícolas, como es el caso de aves y bovinos que generalmente forman parte de la vida de los habitantes del campo. Esta situación también

fue observada principalmente en los dos campos de melón muestreados, donde los trabajadores generalmente contaban con ganado vacuno y canes en sus casas. Los represos o cuerpos de agua de riego estaban a cielo abierto y ahí bebían todos los animales, así como una gran variedad de pájaros y posiblemente otro tipo de fauna. Por otra parte, en los campos de cilantro no había casas de habitación, pero las personas encargadas de la recolección generalmente eran acompañados por los perros y

paques, etc.), desde el campo hasta el consumidor, puede afectar la carga microbiana de los productos de origen vegetal. Las cadenas que no presentaron contaminación fueron las de cilantro, mostaza y perejil.

Kubo *et al.* (2004) señalan que algunos compuestos volátiles del cilantro tienen efecto antimicrobiano, puesto que los compuestos alifáticos (2E)-alquenales y alcanales, característicos del cilantro (*C. sativum*) mostraron actividad bactericida contra *Salmonella choleraesuis* ATCC 35640. Posiblemente,

TABLA I
CARACTERÍSTICAS DE LAS CEPAS DE *Salmonella*
AISLADAS DE LOS CAMPOS DE MELÓN Y CILANTRO

| Clave* | Fuente | Cultivo | Serogrupo | Sensibilidad |
|--------|---------------|----------|-------------------|--------------|
| 1 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 2 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. give</i> | + |
| 3 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. give</i> | + |
| 4 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. give</i> | + |
| 5 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 6 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 7 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 8 | Agua de Riego | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 9 | Tierra | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 10 | Tierra | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 11 | Tierra | Cilantro | <i>S. anatum</i> | + |
| 12 | Agua de Riego | Melón | <i>S. anatum</i> | + |
| 13 | Agua de Riego | Melón | <i>S. anatum</i> | + |
| 14 | Agua de Riego | Melón | <i>S. anatum</i> | + |
| 15 | Agua de Riego | Melón | <i>S. anatum</i> | + |
| 16 | Tierra | Melón | <i>S. newport</i> | + |
| 17 | Tierra | Melón | S. H | NN |
| 18 | Fruto | Melón | S. H | + |

*: Clave proporcionada por el laboratorio, de acuerdo al orden del aislamiento.

+: Sensible a todos los antibióticos.

NN: Resistencia intermedia a tobramicina.

el agua de riego era transportada por canales. Aún cuando se aisló mayor cantidad de cepas del campo de cilantro, en el campo y en el fruto de melón se aisló mayor variedad de serotipos.

Johnston *et al.* (2005) realizaron un análisis de las cadenas productivas de lechuga (*Lactuca sativa*), cilantro (*C. sativum*), perejil (*Petroselinum crispum*), repollo (*Brassica oleraceae* var. *viridis*), melón Cantaloupe (*C. melo*), mostaza (*Brassica alba*) y espinacas (*Spinacia oleracea*), demostrando que cada etapa de la cadena productiva (tierra de cultivo, agua de riego, lavados, personal, contenedores, em-

por lo anterior no se pudo aislar al patógeno de ese vegetal en este trabajo. A pesar de las pobres prácticas de higiene en el cultivo del cilantro, *Salmonella* spp. ha sido muy poco aislada de este alimento y solo del agua de riego y de la tierra de cultivo. En el presente trabajo se pudo aislar la bacteria del melón; sin embargo, no se aisló del cilantro, posiblemente gracias a la presencia de su sistema de defensa natural con los compuestos aromáticos.

Identificación serológica

En la Tabla I se muestran los resultados de la caracterización serológica, donde se aprecia que

el serogrupo que predominó fue *S. anatum*, tanto en los dos campos de melón, como en los de cilantro. Gutiérrez-Cogco *et al.* (2000) dieron a conocer que los serogrupos de *Salmonella* más frecuentes en México, aislados de muestras humanas y de alimentos, son *typhimurium*, *enteritidis*, *derby*, *agona* y *anatum*, mientras que en diferentes epidemias internacionales producidas por *S. enterica* han predominado los serogrupos *enteritidis*, *typhimurium*, *anatum*, *virchow* y *hadar* (Peters *et al.*, 2003). Los resultados de Gutiérrez-Cogco *et al.* (2000) hacen suponer que algunos de los alimentos analizados fueron vehículos de ETAs, ya que en el 4,2% de las muestras humanas se encontraron los mismos serogrupos que en el alimento consumido.

El principal serogrupo aislado en este trabajo, *S. anatum*, se caracteriza por producir desórdenes intestinales con sintomatología similar a la fiebre tifoidea. En Gran Bretaña se presentaron 12 casos de infección en infantes de 1-11 meses por este serogrupo, que se diseminó por el consumo de una fórmula láctea (Threlfall *et al.*, 1998). *S. give*, otro serogrupo identificado, comúnmente se detecta en heces, vísceras y carne de aves así como en harinas de carne (Hofer *et al.*, 1997). Higgins *et al.* (1997) lo aislaron de heces diarreicas y alimento para bovinos, y de intestinos de caprinos y avestruz en diferentes regiones de Quebec. Por su parte, *S. newport* se asocia más con diarrea de bovinos adultos, produciendo pérdidas de peso y pobre producción, aunque también se ha asociado con brotes en humanos causados por cepas multiresistentes (Zansky *et al.*, 2002).

Susceptibilidad a los antibióticos

Las 18 salmonelas analizadas no presentaron resistencia a los antibióticos, excepto una *Salmonella* del grupo H, que mostró resistencia intermedia a tobramicina (Tabla I). Lo anterior puede indicar que estas cepas han tenido poco contacto

con ambientes contaminados con antibióticos, a diferencia de la mayoría de las de origen animal (Zansky *et al.*, 2002).

Las salmonelas y otros patógenos de origen alimentario adquieren la resistencia a antibióticos por mutaciones cromosómicas al azar, mutaciones de genes existentes, y a través de mecanismos específicos tales como transducción, transformación y conjugación. Esos mecanismos involucran la transferencia de genes de resistencia a antimicrobianos por medio de ADN de plásmidos circulares, tales como factor R, plásmidos conjugativos o elementos cromosómicos (Poppe *et al.*, 1996).

La tobramicina es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro especialmente destinado para combatir bacterias de tipo gram negativas. Los antibióticos se agregan al alimento de los animales (bovinos, porcinos y aves principalmente) y al agua en bajos niveles (15-25ppm) para mejorar su desempeño y en niveles altos (100-200ppm) para tratar enfermedades bacterianas específicas. La generalización del uso de antibióticos en alimentos para ganado ha provocado la emergencia de cepas resistentes de patógenos transmitidos por alimentos, tales como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Campylobacter* spp., así como bacterias endógenas de la microflora animal. Esas cepas resistentes pueden ser transmitidas a los humanos a través de los alimentos. Los aislamientos de *Salmonella* multiresistentes ya se han generalizado en forma alarmante a nivel mundial (Nayak y Kenney, 2002).

Análisis de macrorestricción y PFGE

En la Figura 1 se muestran los perfiles electroforéticos de las salmonelas aisladas. Se observaron cinco patrones de bandas diferentes, con la enzima de restricción *SpeI*, uno por cada serogrupo identificado. En la Figura 2 se muestra el dendrograma obtenido de la caracterización polifásica. Se obtuvieron 5 grupos principa-

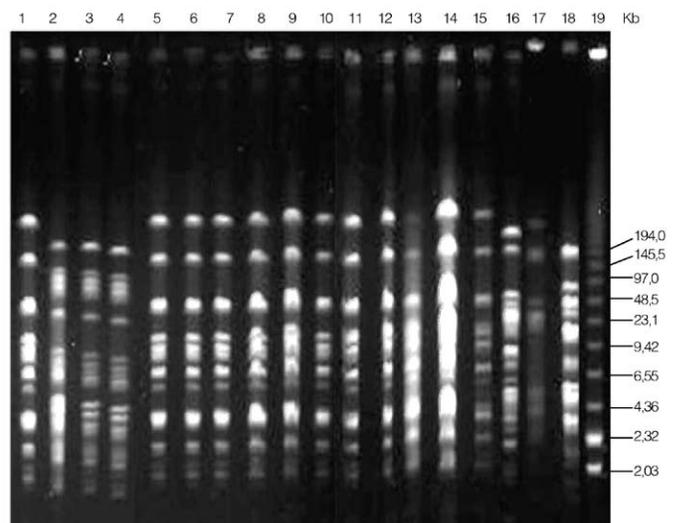


Figura 1. Perfiles electroforéticos del ADN de *Salmonella* spp., digerido con la enzima de restricción *SpeI*. Carriles 2-4: *S. give*; 1, 5-15: *S. anatum*; 16: *S. newport*; 17 y 18: *Salmonella* serogrupo H; 19: marcador de peso molecular PFGE.

les. En el grupo 1 se encuentra la cepa de *S. newport* y las dos cepas del serogrupo H con un porcentaje de similitud del 50%. *S. anatum* pertenece al grupo 2, con 100% de similitud a pesar de que las cepas provinieron de campos diferentes y distantes. En el grupo 5 se encuentra *S. give* con 100% de similitud. Todas las cepas de este serogrupo se aislaron de agua de riego del campo de cilantro. La similitud entre los

serogrupos fue <35%. Los grupos 3 y 4, que están formados por las cepas control, tuvieron poca similitud entre ellas y con las cepas obtenidas del campo.

La diversidad entre las salmonelas ha sido estudiada utilizando varios métodos como los perfiles de resistencia antimicrobiana, tipeado de fagos y PFGE (Poppe *et al.*, 1996; Higgins *et al.*, 1997; Peters *et al.*, 2003). La tipificación genómica de este patógeno ha sido recono-

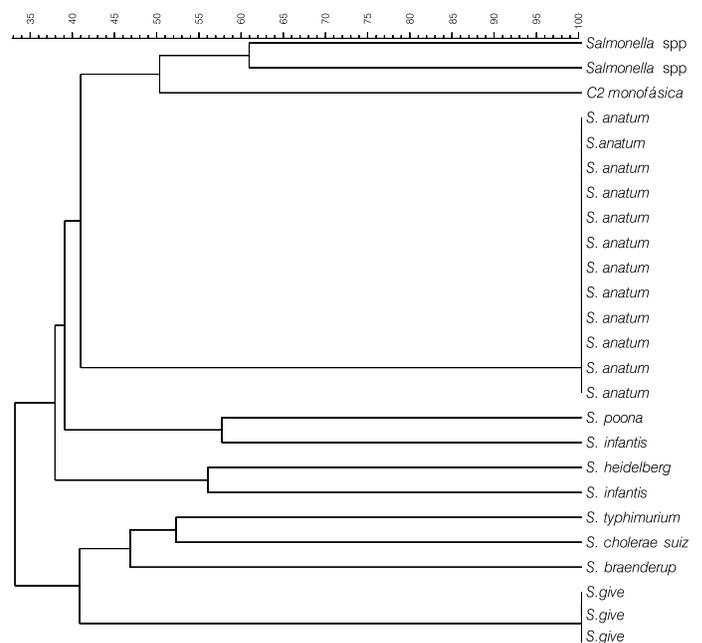


Figura 2. Dendrograma del análisis polifásico de los serogrupos de *Salmonella* aislados de campos agrícolas de melón y cilantro.

cida como una herramienta importante a nivel epidemiológico, ya que ayuda en la localización de las fuentes contaminantes en brotes epidémicos, detección de contaminación cruzada, reconocimiento de cepas particulares y monitoreo de estrategias de intervención.

El método principal, internacionalmente aceptado para identificación de *Salmonella* es el serotipado, seguido de la tipificación de fagos para discriminar entre los serogrupos más comunes. Los perfiles de ADN se usan a menudo en brotes epidémicos, donde se necesita una mejor discriminación de las cepas. Entre los métodos genómicos, el PFGE está considerado como el método estándar para el genotipado de *Salmonella* y se ha propuesto como un sistema para diferenciar cepas epidémicas de las endémicas (Gebreyes *et al.*, 2006). Higgins *et al.* (1997) estudiaron la presencia de *S. give* en bovinos, caprinos y avestruces en diferentes regiones; los patrones de susceptibilidad antimicrobiana, fagotipado y PFGE confirmaron que todos los aislamientos pertenecían al mismo clon.

En Estados Unidos se ha aplicado PFGE para el estudio de epidemias internacionales de *S. enterica*, que incluyen los serotipos *enteritidis*, *typhimurium*, *anatum*, *virchow* y *hadar*, los cuales han estado asociados a enfermedades transmitidas por alimentos. También se ha formado una red de tipificación del CDC con la técnica de PFGE tanto para *E. coli* O157:H7 como para *Salmonella* y el modelo ya se ha extendido a la región Asia Pacífico y Sudamérica (Peters *et al.*, 2003). La PFGE también ha sido utilizada en otras partes del mundo para establecer las causas de las ETAs relacionadas con los serotipos *typhimurium*, *paratyphi*, *agona*, *stanley*, *saphra* y *javiana* (Little, 2001).

El uso de agua de riego contaminada, pobres prácticas de higiene en los trabajadores, falta de buenas prácticas agrícolas y de producción pueden favorecer la presencia de *Salmonella*

spp en el producto final, en cualquier alimento de origen vegetal. La identificación exacta del agente causal puede permitir el control sanitario de los productos, principalmente los que son para consumo directo, como es el caso del cilantro y del melón. Desde el punto de vista epidemiológico, es necesario conocer cuáles son los serotipos circulantes y los de nueva introducción para poder determinar las acciones de prevención requeridas.

Conclusiones

La incidencia del serogrupo *S. anatum* es un fuerte indicio de que existen animales portadores (aves, ganado, animales domésticos, etc) en los campos estudiados o muy cercanos a ellos. Es necesario intensificar las buenas prácticas agrícolas y de producción, a fin de minimizar el riesgo de presencia de este patógeno en el producto final, ya que los serogrupos identificados han estado involucrados en brotes epidémicos en otros países.

El análisis polifásico permite suponer que las cepas de *S. give* son clonales, puesto que muestran 100% de similitud y fueron aisladas de la misma fuente y únicamente de los campos de cilantro. Caso contrario sucede con *S. anatum*, que a pesar de que el análisis polifásico mostró 100% de similitud entre las cepas identificadas, éstas provienen de fuentes diferentes y de campos de melón y cilantro distantes unos de los otros. Para confirmar que se trata de cepas clonales, habría que realizar análisis genómicos adicionales y buscar el origen de contaminación para ambos campos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INVCIAD86 de la Fundación PRODUCE. Capítulo Sonora, México.

REFERENCIAS

Bender JB, Hedberg CW, Boxrud DJ, Besser JM, Wicklund JH, Smith KE, Osterholm MT (2001) Use of molecular subtyping in surveillance for *Salmonella enterica*

serotype *typhimurium*. *New Eng. J. Med.* 344: 189-195.

Bennasar A, de Luna G, Cabrer B, Lalucat J (2000) Rapid identification of *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis* and *S. virchow* isolates by Polymerase Chain Reaction based fingerprinting Methods. *Int. Microbiol.* 3: 31-38.

Bowen A, Fry A, Richards G, Beauchat L (2005) Infections associated with Cantaloupe consumption: a public health concern. *Epidemiol. Infect.* 134: 675-685.

Brandl MT, Mandrell RE (2002) Fitness of *Salmonella enterica* Thompson in the cilantro phyllosphere. *Appl. Env. Microbiol.* 68: 3614-3621.

Campbell JV, Mohle-Boetani J, Reporter R, Abbott S, Farrar J, Brandl M, Mandrell R, Werner SB (2001) An outbreak of *Salmonella* serotype *thompson* associates with fresh cilantro. *J. Infect. Dis.* 183: 984-987.

CDC (2002) Multistate outbreaks of *Salmonella* serotype *poona* infections associated with eating cantaloupe from Mexico-United States and Canada. Center for Disease Control. *Morb. Mort. Weekly Rep.* 51: 1044-1047.

Espinosa-Medina IE, Rodríguez-Leyva FJ, Vargas-Arispuero I, Islas-Osuna MA, Acedo-Félix E, Martínez-Téllez MA (2006) PCR Identification of *Salmonella*: Potential contamination sources from production and postharvest handling of cantaloupes. *J. Food Protect.* 69: 1422-1425.

FDA/CFR (1998) Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de frutas y vegetales. www.cfsan.fda.gov (Cons. 01/10/2002).

Gagliardi JV, Millar PD, Lester G, Ingram D (2003) On-Farm and postharvest processing sources of bacterial contamination to melon rinds. *J. Food Protect.* 66: 82-87.

Gebreyes WA, Altier C, Thakur S (2006) Molecular epidemiology and diversity of *Salmonella* serovar *typhimurium* in pigs using phenotypic and genotypic approaches. *Epidemiol. Infect.* 134: 187-198.

Gutiérrez-Cogco L, Montiel-Vázquez E, Aguilera-Pérez P, González-Andrade MC (2000) Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Públ. Méx.* 42: 490-495.

Higgins R, Desilets A, Cantin M, Messier S, Khakhria R, Ismafi J, Mulvey MR, Daignault D, Caron H (1997) Outbreak of *Salmonella give* in the Province of Quebec. *Can. Vet. J.* 38: 780-781.

Hofer E, Silva-Filho SF, Reis EMF (1997) Prevalencia de serovares de *Salmonella* aislados de aves no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 17: 55-62.

Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, Martínez MC, Anciso JC, Mora B, Moe CL (2005) A field study of the microbial quality of fresh produce. *J. Food Protect.* 68: 1840-1847.

Kubo I, Fujita K, Kubo A, Nihei K, Ogura T (2004) Antibacterial activity of coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. *J. Agric. Food Chem.* 52:3329-3332.

Little C (2001) *Salmonella stanley* and *Salmonella newport* in imported peanuts. *Eurosurv. Weekly* 5: 11.

Nayak R, Kenney PB (2002) Screening of *Salmonella* isolates from a turkey production facility for antibiotic resistance. *Poultry Sci.* 81: 1496-1500.

NCCLS (2002) *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. M102-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA, EEUU. 215 pp.

Peters TM, Maguire C, Threlfall EJ, Fisher IS, Gill N, Gatto A (2003) The Salm-gene project - a European collaboration for DNA fingerprinting for food-related salmonellosis. *EuroSurveillance* 8: 46-50.

Popoff M, Bockemuhl J, McWorther-Murlin A (1991) The Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 34 (Suppl. 142): 1029-1033.

Poppe C, McFadden KA, Demczuk WH (1996) Drug resistance, plasmids, biotypes and susceptibility to bacteriophages of *Salmonella* isolated from poultry in Canada. *Int. J. Food Microbiol.* 30: 325-344.

SSA (1995) *Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la Determinación de Salmonella en Alimentos*. Secretaría de Salud. México. www.salud.gob.mx (Cons. 01/11/2002).

Tenreiro R, Santos MA, Paveia H, Vieira G (1995) Inter-strain relationship among leuconostocs and their divergence from other *Leuconostoc* species, as revealed by low frequency restriction fragment analysis of genomic DAN. *J. Appl. Bacteriol.* 77: 271-280.

Threlfall EJ, Ward LR, Hampton MD, Ridley AM, Rowe B, Roberts D, Gilbert RJ, Van Someren P, Wall PG, Grimont P (1998) Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella enterica* serotype *anatum* responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. *Epidemiol. Infect.* 121: 289-93.

Zansky S, Wallace B, Schoonmaker-Bopp D, Smith P, Ramsey F, Painter J, Gupta A, Kalluri P, Noviello S (2002) From the Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of multi-drug resistant *Salmonella newport*-United States, January-April 2002. *JAMA* 288: 951-3.