

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una infección intestinal común asociada a alimentos en humanos y una infección subclínica muy común en cerdos, el cual puede ser un reservorio de *Salmonella* resistente a cefalosporinas de amplio espectro y colistina, dos antibióticos de importancia crítica para los humanos que representan un grave problema para la salud pública a nivel mundial.

METODOLOGÍA

Este estudio fue diseñado para evaluar los perfiles de resistencia antimicrobiana (RAM) y la frecuencia de genes de virulencia entre 15 cepas de *Salmonella* aisladas de material fecal porcina obtenidas después de realizar un muestreo en una granja porcícola semitecnificada localizada en Jiutepec, Morelos, México y 9 cepas aisladas de materia fecal de casos de diarrea humana obtenidas de una población monitoreada de cerca que acudieron a tres Centros de Salud (CS) cercanos a la granja (CS Jiutepec, CS Huizachera, CS Calera Chica), incluyendo a la población que presentaban síntomas de enfermedad diarreica y fueron referenciados al Hospital General “Dr. José G. Parres” en Cuernavaca, Morelos. La serotipificación de los aislamientos de *Salmonella* de cerdos y humanos se realizó en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE), basandose en el esquema WKL que consiste en aglutinar la bacteria con antisueros específicos para identificar variantes de antígenos somáticos (O) y flagelados (H). La susceptibilidad antimicrobiana a 10 antibióticos se confirmó mediante concentración mínima inhibitoria (MIC) usando la técnica de microdilución en caldo [1]. La confirmación genotípica de genes de virulencia (VG) se realizó por PCR punto final [2]. La tipificación molecular se determinó mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).

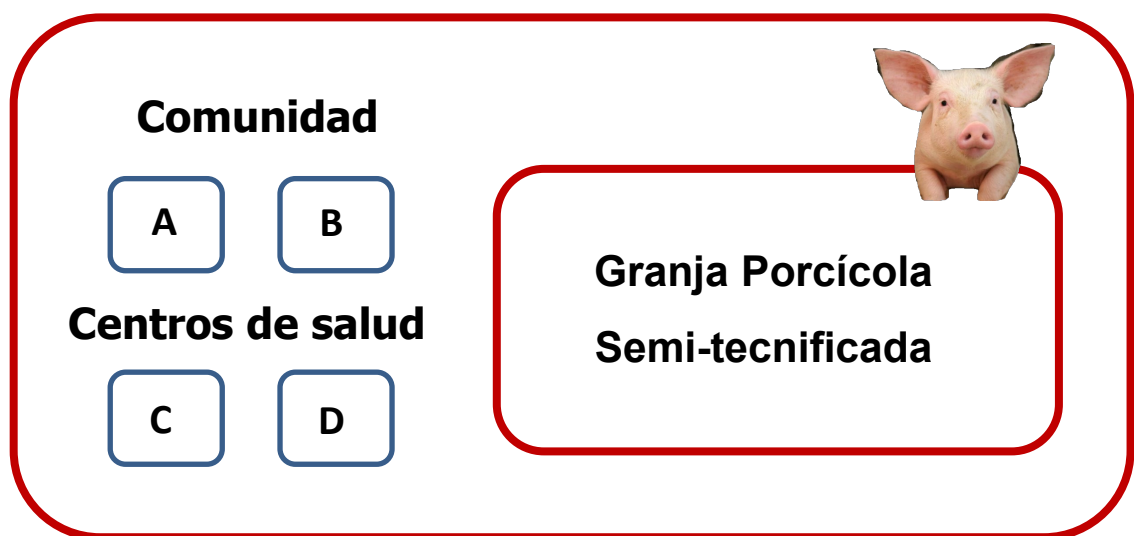


Figura 1. Esquema del modelo interfase salud humana-animal utilizado. La granja porcícola y los Centros de Salud que se muestrearon (A= Centro de Salud Calera Chica, B=Huizachera, C=Calera Chica) se localizan en el municipio de Jiutepec, Morelos, México y D= Hospital General Dr. José G. Parres de Cuernavaca, Morelos, México.

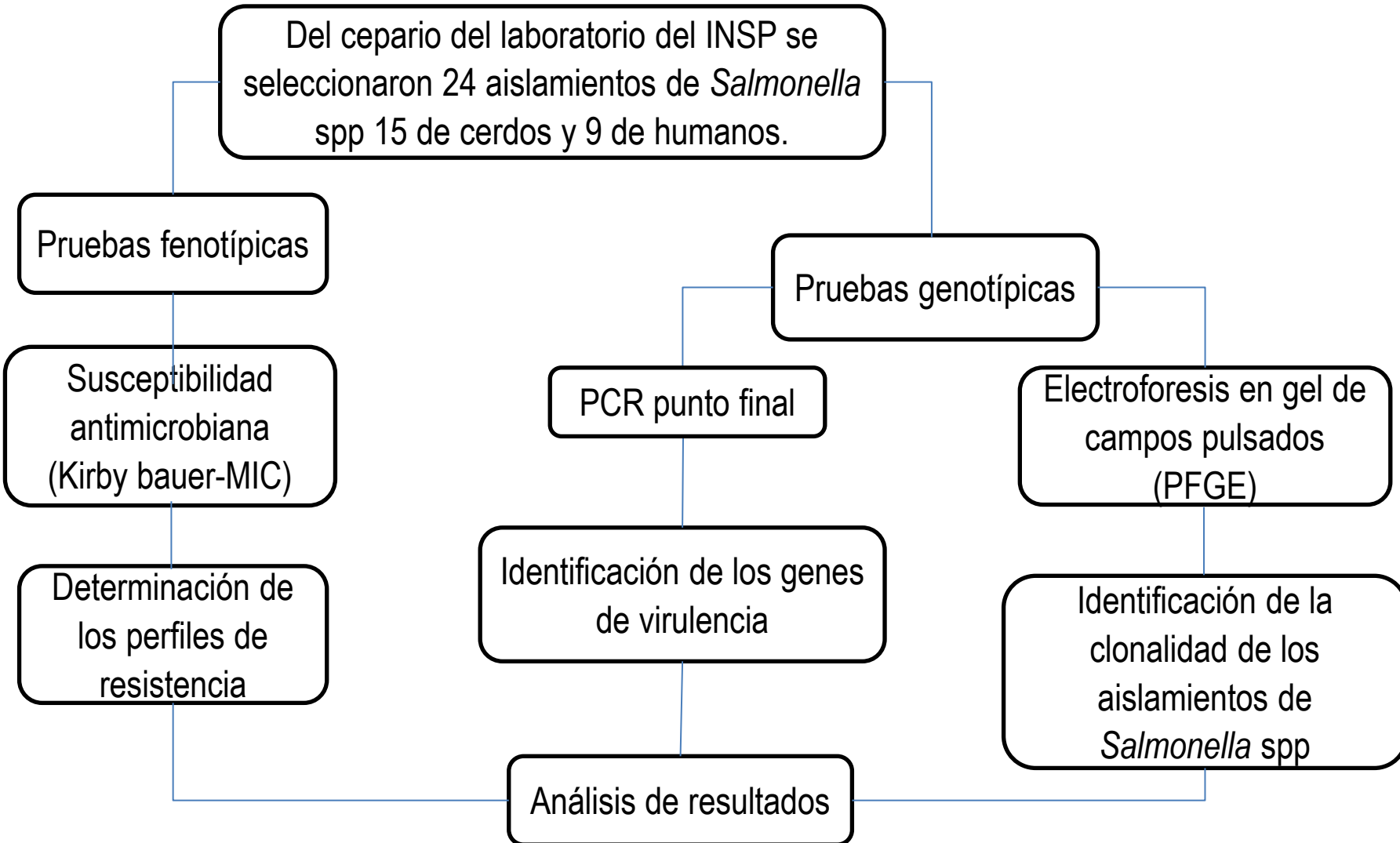


Figura 2. Esquema general de trabajo. Se muestran las etapas que comprende este estudio.

Resultados

Existe una fuerte interrelación entre la resistencia antimicrobiana en cerdos y humanos. Los altos niveles de resistencia en cerdos a **TET (62.5%)**, **AMP (58.3%)**, y **NAL (50%)** sugiere un uso frecuente de estos antibióticos o una disseminación de genes de resistencia. En humanos la resistencia a **NAL (29.2%)** y **TET (20.8%)** sugiere una posible transmisión zoonótica. La resistencia a **CAZ** y **CTX** en cerdos representa una amenaza directa para la salud pública, ya que estos fármacos son esenciales para el tratamiento de infecciones graves en humanos. La resistencia a **CL** en cerdos y humanos es equivalente (12.5%), pero es preocupante en cerdos porque compromete su eficacia en tratamientos críticos en humanos.

CERDOS												
Etap	Edad	Total de cepas n (%)	Antibióticos n (%)									
			AMP	CAZ	CTX	GEN	CIP	NAL	SXT	TET	CHL	CL
Lechón	Lactante (14-21 días)	3 (12.5 %)	3 (12.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	3 (12.5%)	0 (0.0%)	3 (12.5%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)
	Destetado (>21 días)	8 (33.3 %)	8 (33.3%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	6 (25%)	1 (4.2%)	8 (33.3%)	2 (8.3%)	1 (4.2%)
Vientre	1 año	4 (16.7 %)	3 (12.5%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	3 (12.5%)	0 (0.0%)	4 (16.7%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)
TOTAL (n= 15)		15 (62.5 %)	14 (58.3%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	1 (4.2%)	12 (50%)	1 (4.2%)	15 (62.5%)	3 (12.5%)	3 (12.5%)

HUMANOS												
Género	Edad	Total de cepas n (%)	Antibióticos n (%)									
			AMP	CAZ	CTX	GEN	CIP	NAL	SXT	TET	CHL	CL
Masculino	Menor (4M a 16 años)	5 (20.8%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	5 (20.8%)	1 (4.2%)	3 (12.5%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)
	Adulto (61 años)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)
Femenino	Adulto (35 a 54 años)	2 (8.3%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)
TOTAL (n= 9)		9 (37.5%)	3 (12.5%)	2 (8.3%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	7 (29.2%)	3 (12.5%)	5 (20.8%)	4 (16.7%)	3 (12.5%)

Tabla 1. Perfil de resistencia de *Salmonella* spp colonizante y/o causante de diarrea en humanos y cerdos. Los antibióticos analizados son: AMP= Ampicilina, CAZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, IMP= Imipenem, AK= Amikacina, GEN= Gentamicina, CIP= Ciprofloxacino, NA= Ácido nalidíxico, SXR= Sulfametoxazol/trimetoprim, TET= Tetraciclina, CHL= Cloranfenicol, CL= Colistina.

Las cepas MDR de *Salmonella* spp de cerdos y humanos no mostraron una relación clonal. Sin embargo, hay una clona mayoritaria en cerdos que representa un pequeño brote de *Salmonella* en la granja. La multirresistencia antimicrobiana está seleccionada en diferentes clonas de *Salmonella* spp colonizante tanto en cerdos como en humanos. Se establecieron 15 perfiles de virulencia diferentes con base a la presencia de los genes de virulencia *invA* *hilA* *ssaQ* *mgfC* *sopB* *agfA* *pefA*. El PV15 se presentó con mayor frecuencia 4/24 (16.67%) ☒ Presencia ☐ Ausencia

Cepa	Procedencia Geográfica	Origen	Lugar	Función zootécnica	PFGE	Serotipo	Perfil de resistencia	<i>sopB</i>	<i>agfA</i>	<i>invA</i>	<i>hilA</i>	<i>pefA</i>	<i>ssaQ</i>	<i>mgfC</i>
HD013	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	A	Salmonella enteritidis	AMP-NAL-TET							
HD014	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	A	Salmonella enteritidis	NAL-CL							
HC065	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	CSCCH	Humano	B	ND	AMP-CAZ-CTX-NAL-TET							
HD038	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	C	Salmonella sekndri	CAZ-CTX-NAL-SXT-TET-CHL							
HA020	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	CSJ	Humano	D	Salmonella E4	TET-CHL							
HD015	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	E	Salmonella enteritidis	NAL-CL							
HD088	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	F	Salmonella C2 monofásica	NAL-TET-CHL-CL							
HD092	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	HGC	Humano	G	Salmonella poona	AMP-SXT							
C029	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	H	Salmonella B	AMP-NAL-TET-CHL-CL							
C2143	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Vientre	I	Salmonella anatum	TET							
C236	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón lact	J	Eco/Salmonella	AMP-NAL-TET-CL							
C2024	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	K	Salmonella B	AMP-NAL-TET							
C137	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Vientre	L	Salmonella B	AMP-NAL-TET							
C190	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Vientre	M	Eco/Salmonella	AMP-NAL-TET-CL							
C2007	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	Salmonella B	AMP-TET-CL							
C155	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Vientre	N	ND	AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-TET-CHL							
C2060	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón lact	N	Eco/Salmonella	AMP-CIP-NAL-TET							
C2030	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	Salmonella B	AMP-NAL-SXT-TET							
C2031A	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	Salmonella B	AMP-TET							
C2031B	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	Salmonella B	AMP-NAL-TET							
C2033	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	Salmonella B	AMP-NAL-TET							
C2072	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón lact	N	Salmonella B	AMP-NAL-TET							
C2029	Jiutepec, Morelos, México	Hisopado rectal	Granja Porcina	Lechón dest	N	ND	AMP-CAZ-CTX-GEN-NAL-TET-CHL							

Figura 3. Relación clonal de 23 aislamientos representativos de *Salmonella* aislados de heces de cerdos y humano. Los antibióticos analizados son: AMP= Ampicilina, CAZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, IMP= Imipenem, AK= Amikacina, GEN= Gentamicina, CIP= Ciprofloxacino, NAL= Ácido nalidíxico, SXR= Sulfametoxazol/trimetoprim, TET= Tetraciclina, CHL= Cloranfenicol, CL= Colistina. HGC= Hospital General de Cuernavaca “Dr José G. Parres, CSCCH= Centro de Salud Calera Chica, CSJ= Centro de Salud Jiutepec. Se obtuvieron 13 pulsotipos con dos clonas mayoritarias. El panel verde muestra la agrupación de 9/15 cepas de *Salmonella* idénticas de cerdo indicando que hubo un brote en la granja porcina, y el panel azul agrupa 2/9 cepas de *Salmonella* de humano con una alta homología.

PV	Factores de virulencia							No. aislados (N= 24)	% Total de aislados
	<i>sopB</i>	<i>agfA</i>	<i>invA</i>	<i>hilA</i>	<i>pefA</i>	<i>ssaQ</i>	<i>mgfC</i>		
-	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	3	12.5
1	negativo	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	1	4.16
2	negativo	negativo	negativo	positivo	negativo	negativo	negativo	1	4.16
3	negativo	negativo	positivo	positivo	negativo	positivo	negativo	1	4.16
4	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	1	4.16
5	positivo	positivo	positivo	positivo	negativo	negativo	positivo	1	4.16
6	positivo	positivo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	1	4.16
7	negativo	positivo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	1	4.16
8	positivo	positivo	negativo	negativo	positivo	positivo	positivo	1	4.16
9	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	negativo	1	4.16
10	positivo	positivo	positivo	negativo	negativo	positivo	negativo	1	4.16
11	negativo	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo	1	4.16
12	positivo	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo	2	8.33
13	positivo	positivo	negativo	positivo	negativo	positivo	positivo	2	8.33
14	positivo	positivo	negativo	negativo	negativo	positivo	negativo	2	8.33
15	positivo	positivo	negativo	negativo	negativo	positivo	positivo	4	16.67

Figura 4. Perfiles de virulencia (PV) de cepas de *Salmonella* aisladas de materia fecal de humanos y cerdos. se establecieron 15 perfiles de virulencia diferentes en los 24 aislamientos. El PV15 se presentó con mayor frecuencia 4/24 (16.67%), seguido del PV12, PV13, PV14 con 2/24 (8.33%). El resto de los PVs presentaron una frecuencia menor o igual al 4.16%. No se identificaron factores de virulencia en tres cepas de *Salmonella* aisladas.

DISCUSIÓN

La resistencia a cefalosporinas de amplio espectro y colistina se encuentran seleccionadas en diferentes clonas de *Salmonella* spp fecal en cerdos y humanos. Lo que sugiere la posibilidad de elementos genéticos móviles con genes de resistencia y en este caso los cerdos pueden ser reservorios de estos genes y potencialmente pueden seleccionar bacterias resistentes que posteriormente logren transferirse al consumidor (humano) a través del contacto directo y en la cadena alimentaria. En esta granja porcícola no se usan cefalosporinas como promotores de crecimiento; por lo tanto, es poco probable que la selección de esta resistencia ocurra dentro de la granja, lo cual se refuerza con los resultados de multiclonalidad ya que sería esperable que una selección al interior de un ambiente tan cerrado como la granja favoreciera la diseminación clonal. Al analizar los PV y los perfiles de resistencia de antibióticos de las cepas de humanos y cerdos, se observó que las cepas con mayor número de resistencia a antibióticos solo tenían un rango de 3 a 6 genes de virulencia, lo cual sugiere no hay asociación entre estas dos variables. Esto coincide con Hernández y col, que mencionan no hay asociación entre la resistencia antimicrobiana y la presencia de genes de virulencia

CONCLUSIONES

- La resistencia a CAZ y CTX en cerdos representa una amenaza directa para la salud pública, ya que estos fármacos son esenciales para el tratamiento de infecciones graves en humanos.
- Aunque los niveles de resistencia a colistina en cerdos y humanos son equivalentes, la preocupación principal en cerdos radica en su rol como reservorio y diseminador de genes de resistencia a colistina, un uso adecuado de este antibiótico de último recurso en animales es esencial para preservar su eficacia en tratamientos críticos en humanos..
- Los datos reflejan una fuerte interrelación entre la resistencia antimicrobiana en cerdos y humanos, destacando la importancia de abordar este problema desde una perspectiva de "Una Salud", que integre salud humana, animal y ambiental.

Referencias

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-170-3 [Print]; ISBN 978-1-68440-171-0 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2023.
- Higgins D, Mukherjee N, Pal C, Sulaiman IM, Jiang Y, Hanna S, Dunn JR, Karmaus W, Banerjee P. Association of Virulence and Antibiotic Resistance in *Salmonella*-Statistical and Computational Insights into a Selected Set of Clinical Isolates. Microorganisms. 2020 Sep 24;8(10):1465. doi: 10.3390/microorganisms8101465.
- Hernández-Ledesma, A., Cabrera-Díaz, E., Arvizu-Medrano, S. M., Gómez-Baltazar, A., Hernández-Iturriaga, M., & Godínez-Oviedo, A. (2023). Virulence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* enterica isolated from foods, humans, and the environment in Mexico. International Journal of Food Microbiology, 391–393. doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110135