



Instituto Nacional
de Salud Pública

Comparación de los factores de virulencia y perfiles de resistencia de aislamientos de *Salmonella* spp colonizantes o causantes de diarrea en la interfaz salud humana-animal.



Ramírez López Maritza¹, Tamayo-Legorreta Elsa¹, Alpuche-Aranda Celia¹, Ortiz-Navarrete Vianney².
¹Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México.
²Departamento de Biomedicina Molecular, CINVESTAV/IPN, Cdmx, México.

maritza.ramirez@insp.edu.mx; vortiz@cinvestv.mx; emtamayo@insp.mx orcid/0000-0003-3344-0718; celia.aranda@insp.mx orcid/0000-0002-5405-5256 ,,

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.

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 porcino obtenidas después de realizar un muestreo en una granja porcina 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 diarréica 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), basándose 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).

METODOLOGÍA

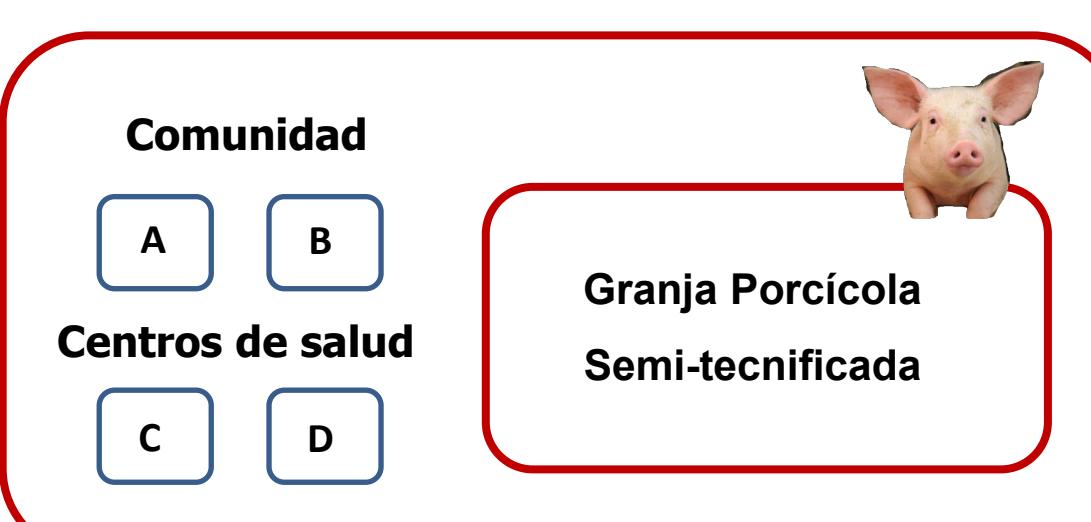


Figura 1. Esquema del modelo interfase salud humana-animal utilizado. La granja porcina y los Centros de Salud que se muestrearon (A= Centro de Salud Calera Chica, B=Huizachera, C=Calera Chica) se localizan en el municipio de Jiutepec, Morelos, México y D= Hospital General Dr. José G. Parres de Cuernavaca,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

Comparar los factores de virulencia y perfiles de resistencia entre las cepas de *Salmonella* spp aisladas de materia fecal de porcinos y humanos.

OBJETIVO

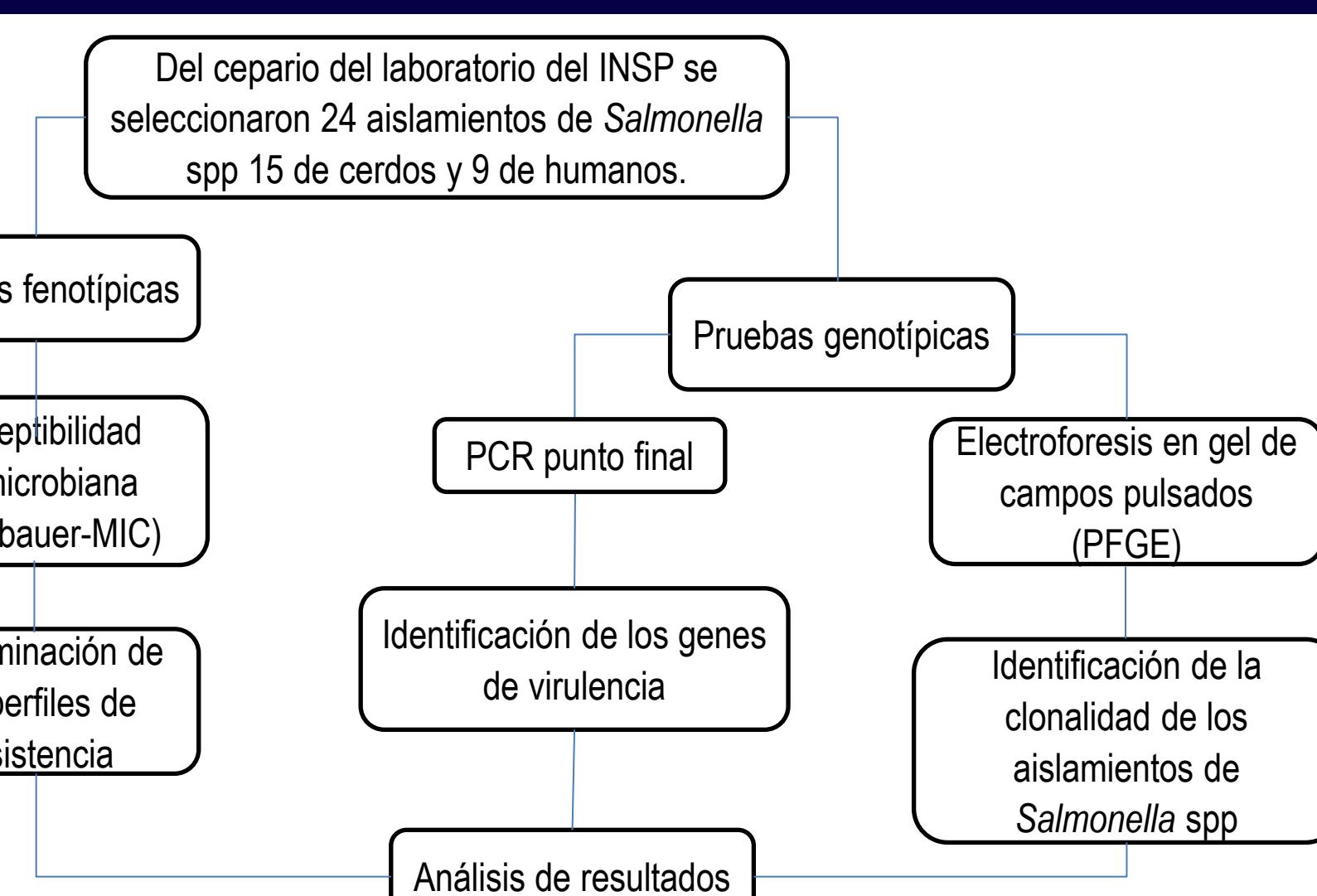


Figura 2. Esquema general de trabajo. Se muestran las etapas que comprende este estudio.

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 diseminación 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 | | | | | | | | | | | | HUMANOS | | | | | | | | | | | | | |
|---------|-----------------------|----------------------|--------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------------------|----------------------|--------------------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Etapa | Edad | Total de cepas n (%) | Antibióticos n (%) | | | | | | | | | | Género | Edad | Total de cepas n (%) | Antibióticos n (%) | | | | | | | | | |
| | | | AMP | CAZ | CTX | GEN | CIP | NAL | SXT | TET | CHL | CL | | | | 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%) | 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%) |
| | 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%) | | | | 0 (0.0%) | 0 (0.0%) | 0 (0.0%) | 0 (0.0%) | 1 (4.2%) | 1 (4.2%) | 1 (4.2%) | 2 (8.3%) | 0 (0.0%) | |
| 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%) | 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 = 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%) | | | | 9 (37.5%) | 3 (12.5%) | 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= Ciprofloxacin, NAL= Ácido nalidixico, SXR= Sulfametoazol/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.

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 clones 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 mgtC sopB agfA pefA pefA. El PV15 se presentó con mayor frecuencia 4/24 (16.67%) Presencia Ausencia

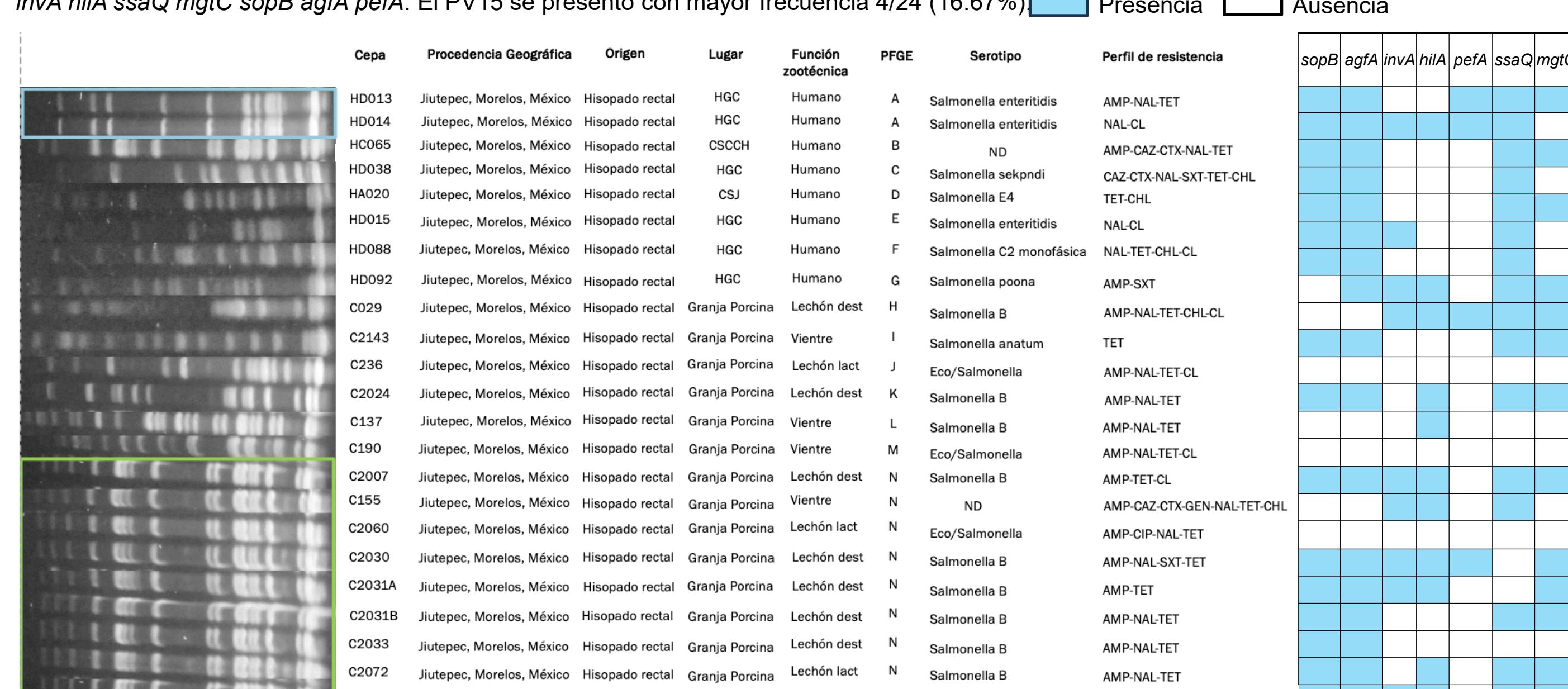


Figura 3. Relación clonal de 23 aislamientos representativos de *Salmonella* aislados de heces de cerdos y humano. Los antibióticos analizados son: AMP= Ampicilina, CAZ= Ceftazidima, CTX= Cefotaxima, IMP= Imipenem, AK= Amikacina, GEN= Gentamicina, CIP= Ciprofloxacin, NAL= Ácido nalidixico, SXR= Sulfametoazol/trimetoprim, 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 clones mayoritarios. 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.

DISCUSIÓN

La resistencia a cefalosporinas de amplio espectro y colistina se encuentran seleccionadas en diferentes clones 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 porcina 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

| PV | Factores de virulencia | | | | | | | No. aislados (N= 24) | % Total de aislados |
|----|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------------|---------------------|
| | sopB | agfA | invA | hilA | pefA | ssaQ | mgtC | | |
| - | 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 | positivo | negativo | 1 | 4.16 |
| 5 | positivo | positivo | positivo | positivo | positivo | negativo | negativo | 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.

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 ambient