

IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS PERTENECIENTES AL GÉNERO SALMONELLA

Yanaika Cruz Infante
Anabel Fernández Abreu
Adalberto Aguila
Laura Bravo Fariñas
Zurisnay Ramírez Mejías
Delmis Alvarez Gainza
Eduardo A. Valdés Ramos
Ana María Cordero Azcuy

Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). La Habana, Cuba

RESUMEN

Objetivos: identificar los serogrupos y determinar la resistencia antimicrobiana en aislados de *Salmonella* sp., procedentes de pacientes con enfermedad diarreica (EDA) en Cuba durante el periodo comprendido entre los años 2016 - 2022.

Materiales y Métodos: se analizaron 929 aislamientos de *Salmonella* sp., remitidos al cepario del Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedad Diarreica Aguda del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, desde los Centros de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Cuba, durante el período transcurrido entre los años 2016 al 2022. El serotipaje se determinó, mediante el esquema de Kaufmann – White. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de Bauer – Kirby, de acuerdo, con la metodología descrita en la normativa del Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico.

Resultados: todos los aislamientos correspondieron al género *Salmonella*. Los serogrupos más frecuente fueron el D, seguido por el B. Se constató el predominio de los serotipos S. Enteritidis, S. Dublin, S. Typhimurium y S. Essen. Los porcentajes de resistencia antimicrobiana más altos se observaron la ampicilina (64,0%), el trimetoprim/sulfametoxazol (13,6%) y la azitromicina (12,5%); mientras que, frente a la amikacina todos los aislamientos fueron sensibles.

Conclusiones: Los resultados identificados, constituyen un aporte al conocimiento de la epidemiología de *Salmonella* en Cuba, pues evidencian la circulación de diversos serogrupos y serotipos, en las muestras clínicas investigadas, así como un porcentaje elevado de aislamientos resistentes a los antimicrobianos utilizados, para el tratamiento de las infecciones humanas.

Palabras clave: *Salmonella* – serotipaje – *Salmonella* Enteritidis – *Salmonella* Dublin susceptibilidad antimicrobiana – resistencia.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad diarreicas agudas (EDA) tienen una prevalencia elevada en el mundo, su alta incidencia, morbilidad y mortalidad en los ancianos y los niños menores de cinco años hacen de esta entidad clínica un tópico de especial interés ⁽¹⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala algunos factores que favorecen al desarrollo de las EDA y entre ellos se encuentran: una inadecuada alimentación, los cambios climáticos, las condiciones higiénicas deficientes, el uso indebido de medicamentos y la infección por agentes biológicos tales como: virus, protozoos, levaduras y bacterias, dentro de las que se pueden mencionar a *Vibrio* spp., *Plesiomonas* shigelloides, *Aeromonas* spp., *Clostridium* difficile, *Salmonella* sp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia* spp. y *Campylobacter* spp. ⁽²⁾

Los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella* se caracterizan por ser bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, oxidasa negativa, que tienen una gran distribución mundial y se aíslan de fuentes tan diversas, como el agua, el suelo y los alimentos. Además, pueden ocasionar infecciones extraintestinales, entre las que se señalan: infecciones quirúrgicas, heridas, celulitis, septicemia, meningitis y otitis, entre otras ⁽³⁾.

Los cuadros diarreicos ocasionados por especies del género *Salmonella*, en los individuos sanos son autolimitados, que muestran una evolución satisfactoria, cuando reciben una dieta y rehidratación oral adecuada. Sin embargo, en los

pacientes inmunocomprometidos, los niños y los ancianos se requiere de un tratamiento antimicrobiano ⁽⁴⁾. En estos microorganismos se evidencia la presencia de varios mecanismos de resistencia antimicrobiana dentro de los cuales se encuentra la presencia de β -lactamasas, enzimas que por hidrolizar a las cefalosporinas y a la carbenicilina, ocasionan resistencia frente a los β -lactámicos (penicilina, ampicilina y cefalotina), aunque se identifican cepas sensibles a las cefalosporinas de segunda y tercera generación, así como a las quinolonas, que presentan una resistencia variable a los aminoglucósidos y macrólidos ⁽⁴⁾. Estudios recientes, en el mundo, evidencian un aumento de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella* sp., aisladas de pacientes con EDA y en los alimentos de origen animal. El aumento progresivo de la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* sp., se atribuye al uso indiscriminado de antimicrobianos. Estos fármacos no solo se utilizan para el control de las infecciones, en la industria pecuaria y avícola, sino que se usan también como promotores del crecimiento animal en dosis subterapéuticas durante largos periodos, así como profilácticos en la acuicultura y agricultura, lo que contribuye a la extensión de la resistencia ^(5, 6). Los estudios microbiológicos y epidemiológicos realizados en Cuba evidencian que los serotipos *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, se aíslan con mayor frecuencia y son importantes agentes causales de brotes y casos aislados de salmonelosis ⁽⁷⁾. Las investigaciones realizadas en

Cuba durante 20 años, a cepas de *Salmonella* sp., aisladas de pacientes con EDA, demuestran una resistencia baja a los antimicrobianos de elección ⁽⁷⁾. En la actualidad, los aminoglucósidos, las cefalosporinas de tercera generación y las quinolonas floradas, muestran aún porcentajes altos de sensibilidad. Sin embargo, para las sulfonamidas, la ampicilina, el cloranfenicol, la tetraciclina, la azitromicina y el ácido nalidíxico, en la última década se registran porcentajes de resistencia que oscilan entre el 20 % y el 70 % ⁽⁷⁾. En Cuba, en el año 2020 realizan 104 010 consultas médicas por EDA ⁽⁸⁾; entre ellas, *Salmonella* causa el 32 % de los brotes de enfermedades de transmisión alimentaria, la mayoría asociadas al consumo de carne y productos cárnicos ⁽⁹⁾. Los estudios de la situación existente respecto a *Salmonella* se destinan, sobre todo, a los animales afectados y que transmiten esta infección al hombre, por lo que se necesita una actualización de la situación de este enteropatógeno en los casos clínicos. Por la problemática expuesta con anterioridad, este trabajo se propone identificar los serogrupos y serotipos de los aislamientos de *Salmonella* sp., así como determinar la resistencia antimicrobiana en los aislamientos obtenidos de pacientes con EDA, en Cuba, en el periodo transcurrido entre los años 2016 al 2022.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo observacional que incluyó el período transcurrido desde enero

de 2016 hasta diciembre de 2022. Se estudiaron 929 aislados de *Salmonella* sp., pertenecientes al cepario del Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedad Diarreica Aguda del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK), procedentes de los Centros de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Cuba. La confirmación del género *Salmonella* se realizó, por los métodos convencionales. Los aislamientos se inocularon en un medio de enriquecimiento de caldo cerebro-corazón (Biolife) y luego se incubaron en condiciones de aerobiosis durante 18-24 horas a 37 °C. Transcurrido ese período de incubación, se sembraron en el medio selectivo y diferencial de agar MacConkey (Biolife), mediante el método de agotamiento en placas, para obtener colonias aisladas y con posterioridad las siembras realizadas se incubaron en iguales condiciones. Posterior a la incubación, se eligieron entre 2 a 3 colonias presuntivas de *Salmonella* y se subcultivaron por punción y estría en los medios de diferenciación primaria: agar hierro y dos azúcares de Kligler (AHK) y agar hierro lisina (AHL) (Biolife)⁽³⁾. Los aislamientos identificados, como pertenecientes al género *Salmonella* sp., se sometieron al sistema de identificación fenotípica, por el método que emplea cuatro pruebas bioquímicas diferentes⁽¹⁰⁾. En la identificación del serotipo se utilizó el esquema de Kauffman-White que incluyó las pruebas serológicas de aglutinación en lámina, junto con los antisueros somáticos y flagelares⁽¹¹⁾. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana a través del método

de difusión en agar (Bauer - Kirby), en correspondencia con la metodología descrita para los microorganismos del género *Salmonella*, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. En la lectura e interpretación de los halos de inhibición se utilizaron los protocolos recomendados por el Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI)^(12, 13).

Se emplearon las siguientes cepas controles:

Escherichia coli ATCC® 25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853

Staphylococcus aureus ATCC® 25923

RESULTADOS

Todos los aislamientos (929) correspondieron al género *Salmonella*, produjeron gas y H₂S, fermentaron la glucosa y descarboxilaron la lisina, fueron citrato positiva, urea negativa, motilidad positiva e indol negativa, la ausencia de la enzima citocromo oxidasa (oxidasa negativa) y la aglutinación del antisuero polivalente O. Se identificaron nueve serogrupos mediante el esquema de Kauffman-White, entre los cuales predominaron el D y B; y se confirmaron 42 serovariedades, cuyos porcentajes más altos correspondieron a *S. Enteritidis*, *S. Dublin*, *S. Typhimurium* y *S. Essen* (figura 1).

Los criterios de interpretación del antibiograma se analizaron, según las normas establecida por el CLSI, 2021. Al analizar la susceptibilidad antimicrobiana se observó que, todos los aislamientos fueron sensibles a la amikacina.

En general, los porcentajes de resistencia antimicrobiana más altos correspondieron a la ampicilina (64,0

%), el trimetoprim/sulfametoxazol (13,6 %) y a la azitromicina (12,5 %) (figura. 2).

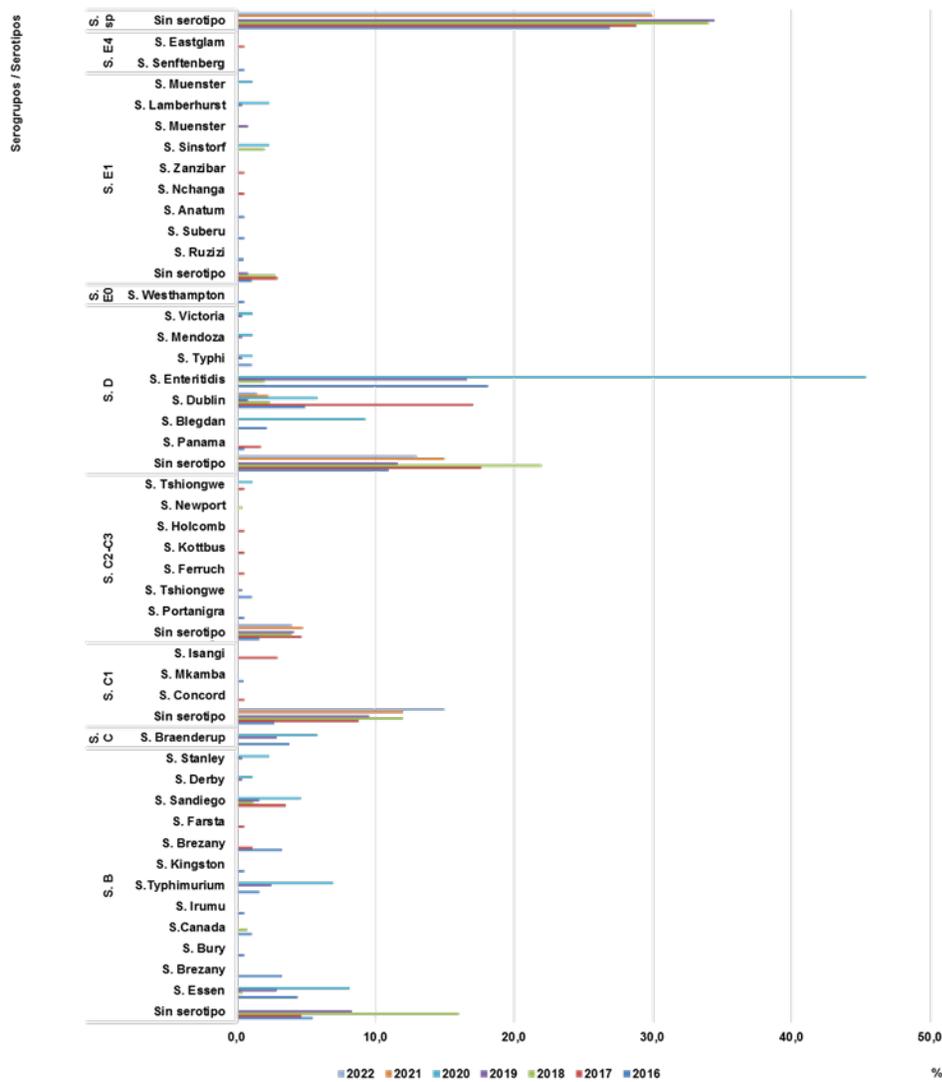


Figura 1. Distribución de los serogrupos identificados en los aislamientos de Salmonella investigados. Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedad Diarreica. 2016-2022

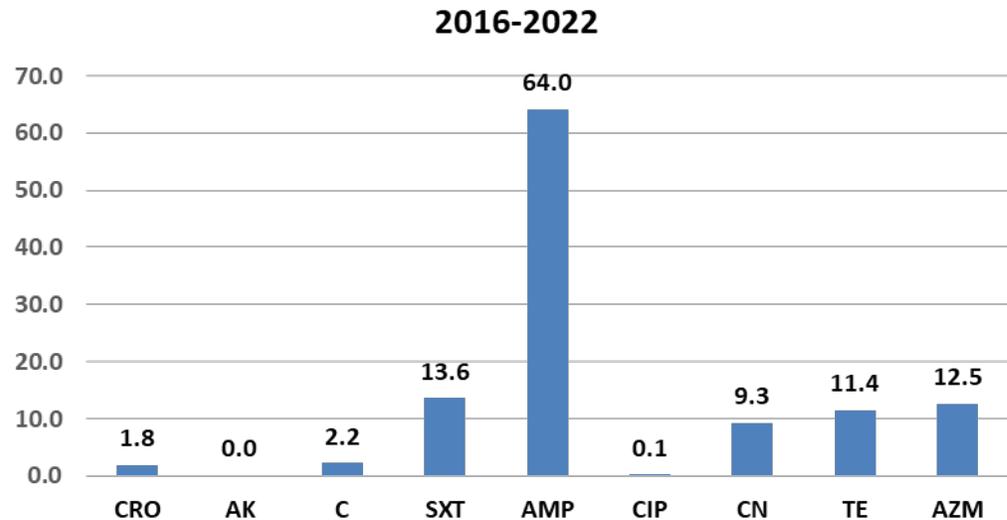


Figura 2. Resistencia antimicrobiana en los aislamientos de Salmonella investigados. Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedad Diarreica. 2016-2022

Leyenda: ceftriaxona (CRO), amikacina (AK), cloranfenicol (C), trimetoprim/ sulfametoxazol (SXT), ciprofloxacino (CIP), gentamicina (CN), tetraciclina (TE), azitromicina (AZM), ampicilina (AMP).

Fuente: Protocolo de trabajo. LNR/ EDA/ IPK.

DISCUSIÓN

Salmonella es uno de los principales microorganismos patógenos causante de diarreas en los humanos, las cuales se relacionan, con el consumo de alimentos contaminados por esta bacteria; Salmonella puede causar gastroenteritis en diferentes grupos etarios y es responsable de enfermedades invasivas graves en los lactantes, los ancianos y las personas inmunocomprometidas. Debido a sus características, Salmonella constituye un problema importante de salud pública en el mundo⁽¹⁴⁾.

Entre los marcadores fenotípicos, el serotipaje es uno de los métodos clásicos para su caracterización. Desde el punto de vista epidemiológico, identificar estos marcadores, tiene un significado valioso, porque permite

determinar la prevalencia de las serovariedades en las diferentes zonas geográficas, ya sea para el estudiar los agentes causales de los brotes o los casos esporádicos⁽⁹⁾.

Al analizar los resultados obtenidos en este trabajo se constató que estos coinciden con los obtenidos en las investigaciones realizadas por Elhadi et al, 2013 en Arabia Saudita, donde notifican, como prevalentes a los serogrupos D y B, en aislamientos obtenidos a partir de muestras de heces, en pacientes con gastroenteritis.^(15, 16) Asimismo, El-Tayeb et al, en 2017 al investigar 33 aislamientos de S. entérica señalan al serogrupo D, como el más frecuente, seguido por el serogrupo B; resultados que se correspondieron con los de este trabajo.^(5, 17)

Otras investigaciones realizadas en Taiwán, en el año 2020, por Xu et al, detectan a los serogrupos B

(54,8 %) y D (18,8 %), con cifras similares a las descritas por Chang et al, en aislamientos identificados como Salmonella no tifoidea, en pacientes menores de 18 años de edad ^(4, 14).

Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación, difieren de los notificados en China por Xu et al, en 2021; quienes al estudiar 88 aislamientos de Salmonella, identifican 8 serogrupos, entre los cuales el B y E, son los más frecuentes ⁽¹⁴⁾.

En estudios de vigilancia epidemiológica realizados en Colombia, a un total de 4 010 aislados de Salmonella, identificados entre los años 2005-2011, los serotipos más frecuentes corresponden a S. Enteritidis ^(9, 18).

Investigaciones realizadas, por Ghodusi et al., en el año 2019, declaran el al serotipo de S. Enteritidis, con el mayor porcentaje de identificación semejante al descrito por Puig et al., en Cuba, en los estudios realizados entre los años 2012- 2020, al analizar 172 aislados de Salmonella ^(9, 19).

Sin embargo, Chang et al, en el análisis de 453 aislados de Salmonella señalan a S. Anatum, como el serotipo más identificado, resultado que difiere del identificado por los autores de este trabajo ⁽⁴⁾

Resultados recientes indican que, en los últimos años, se constata un incremento de la resistencia antimicrobiana, en todo el mundo, entre los aislamientos de Salmonella frente a los fármacos tradicionales utilizados ⁽²⁰⁾.

Al comparar los resultados obtenidos, con otros estudios realizados en Cuba, por Puig et al, durante el año 2021, las pruebas

de susceptibilidad antimicrobiana realizadas por esos autores, refieren una frecuencia de resistencia mayor frente a la ampicilina, seguido de la tetraciclina y el ácido nalidíxico, resultados similares a los obtenidos en este trabajo ⁽⁹⁾.

En esta investigación se obtuvieron resultados semejantes a los alcanzados en Paraguay, por Ortiz et al, en 2021, quienes al analizar 668 aislamientos de Salmonella, procedentes de muestras clínicas humanas y alimentos, identifican un 35,6 % de resistencia antimicrobiana, con el mayor porcentaje frente a la tetraciclina, el ácido nalidíxico y la ampicilina ⁽⁵⁾.

Al comparar los resultados alcanzados, en esta investigación, con los obtenidos en Arabia Saudita durante año 2017, por El-Tayeb MA et al, en muestras clínicas procedentes de pacientes con síntomas de una infección por Salmonella, se obtuvieron valores de resistencia similares frente al trimetoprim-sulfametoxazol ^(9, 17).

En investigaciones de síntesis narrativa y evidencias eferentes al tratamiento con antimicrobianos, realizados por Tack et al, en el año 2020, ellos describen porcentajes bajos de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, a la azitromicina y a los carbapenémicos, con resultados similares a los obtenidos en este estudio ^(21, 22).

CONCLUSIONES

Los resultados identificados, constituyen un aporte al conocimiento de la epidemiología de Salmonella en Cuba, pues evidencian la circulación de diversos serogrupos y serotipos, en

las muestras clínicas investigadas, antimicrobianos utilizados, para así como un porcentaje elevado el tratamiento de las infecciones de aislamientos resistentes a los humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medalla F, Gu W, Friedman C, Judd M, Folster J, Grifi P. Increased Incidence of Antimicrobial-Resistant Nontyphoidal Salmonella Infections, United States, 2004 - 2016. *Emerging Infectious Diseases* doi: 103201/eid2706204486 PMID: PMC8153855 PMID: 34013877 2021;27(6).
2. Alfonso E, Bernal D. La enfermedad diarreica aguda. *Revista Cubana de Pediatría. Rev Cubana Pediatr* versión impresa <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>. 2019;91(4).
3. Caffer M, Terragno R. Diagnóstico y caracterización de Salmonella spp Manual de Procedimientos Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur. 2008.
4. Chang Y-J, Chen M-C, Feng Y, Su L-H, Li H-C, M-JY H-PY. Highly antimicrobial-resistant Nontyphoidal Salmonella from retail meats and clinical impact in children, Taiwan. *Pediatrics and Neonatology* <https://doi.org/101016/j.pedneo202003017>. 2020 61:432-8.
5. Ortiz F, Weiler N, Alvarez M, Orrego M, Kawabata A, Riera E. Resistencia a múltiples antibióticos en serovariedades de Salmonella aisladas de muestras clínicas y alimentos. *Mem Inst Investig Cienc Salud* <https://doi.org/1018004/memiics/1812-9528/20210190137>. 2021;19(1):37-47.
6. Belachew T, Mulusew E, Tolosa Y, Asefa Z, Negussie H, T S. Prevalence and Antimicrobial-Susceptibility Profiles of Salmonella in Smallhold Broiler Supply Chains in Central Ethiopia. *Infection and Drug Resistance* ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/didr20>. 2021;14:4047-55.
7. Cruz Y, Águila A, Bravo L. Salmonella sp. Un patógeno importante en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical Carta Editor* <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>. 2022;74(2):871.
8. Salud AEd. Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. MINSAP. 2020.
9. Puig Y, Leyva V, Tejedor R, Illnait M, Ferrer Y, A C. Susceptibilidad antimicrobiana y serovariedades de Salmonella aisladas en carnes y productos cárnicos. *Rev haban cienc méd [Internet] [citado]* Disponible en: <http://www.revhabanerasldcu/indexphp/rhab/article/view/3894>. 2021;20(2):3894.
10. Caffer M, Terragno R. Diagnóstico y caracterización de Salmonella spp. Manual de Procedimientos Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.2008.
11. Popoff M. Antigenic formulas of the Salmonella serovars 8va edition. WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella France <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadre/cnr/salmoms-index.html>. 2001.
12. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31 ed. M100, editor. Malvern, Pennsylvania, USA. Clinica and laboratory Standards Institute (CLSI). 2021.
13. Bauer A, Kirby W, Sherman T, T M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Path.* 1996;45(4):494-85.
14. Xu H, Zhang W, Zhang K, Zhang Y, Z W. Characterization of Salmonella serotypes prevalent in asymptomatic people and patients *BMC Infectious Diseases [Research Article.* 2021;21.
15. Teshome B, Teklemariam Z, Ayana DA, Marami D, N A. Salmonella and Shigella among patients with diarrhea at public health facilities in Adama, Ethiopia: Prevalence, antimicrobial susceptibility pattern, and associated factors. . *SAGE Open Medicine.* 2019;7(1-8).
16. Elhadi N, Aljindan R, M A. Prevalence of nontyphoidal Salmonella serogroups and their antimicrobial resistance patterns in a university teaching hospital in Eastern Province of Arabia Saudi. *Dovepress [Original Research]*. 2013;6:199-205.
17. El-Tayeb MA, Ibrahim ASS, Al-Salamah AA, Almaary KS, YB E. Prevalence, serotyping and antimicrobials resistance mechanism of Salmonella enterica isolated from clinical and environmental samples in Saudi Arabia. *Elsevier.* 2017;48:499-508.
18. Rodríguez EC, Díaz-Guevara P, Moreno J, Bautista A, Montano L, ME R. Laboratory surveillance of Salmonella enterica from human clinical cases in Colombia 2005-2011. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2017;35(7):417-25.
19. Ghodusi A, Nayeri Fasaai N, Zahraei Salehi T, H A. Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolates in Human, Chicken, and Cattle in Iran. *Razi Vaccine & Serum Research Institute.* 2019;74(3):259-66.
20. Marchello C, Carr S, J C. A Systematic Review on Antimicrobial Resistance among Salmonella Typhi Worldwide *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2020;103(6):2518-27.
21. Tack B, Vanaenrode J, Verbakel J, Toelen J, J J. Invasive non-typhoidal Salmonella infections in sub-Saharan Africa: a systematic review on antimicrobial resistance and treatment. *BMC Med* doi: 101186/s12916-020-01652-4. 2020;18(1):212.
22. Chien-Shun C, Yu-Ping H W, Y-W, Bo-Han Ch, Ru-Hsiou T, S H-Y. Antimicrobial Resistance and Mechanisms of Azithromycin Resistance in Nontyphoidal Salmonella Isolates in Taiwan, 2017 to 2018. *Microbiol Spectr* doi: 101128/spectrum03364-22. 2023;11(1).

ABSTRACT

Objective: to determine the results of the implementation of the initiative Hearts in Gibara, 2023.

Materials and Methods: it was carried out through a study in the municipality of Gibara of Holguín's province, in the period of January to May of the 2023. The results of the establishments of health were compared that have begun the implementation of the initiative HEARTS, regarding the variables of covering of attention and control of the hypertension, in the first trimester of the 2023.

Results: the prevalence of the HTA in Gibara was 35.03 % and in Velasco 30.45 % and in the municipality 32.23 %. In the area of health Velasco was high the acting index in 15 basic teams of health for 29.41 % and in Gibara in progress in 45.45 %. The Index of maturity of processes of Hearts in the two areas of health is incipient, in the municipality it is to 41.67 %.

Conclusions: difficulties exist as much in the acting as in the professional competition in the execution of the program of arterial hypertension in the areas of health, affecting the quality in their execution for the control of the hypertension.

Key words: hypertension; investigation; epidemiology.

