

Caracterización de los determinantes genéticos asociados a la multirresistencia en aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* subs. *enterica* serovar Typhimurium recuperados a partir del programa de vigilancia de Enfermedad Diarreica Aguda en Colombia

Entidades participantes: Instituto Nacional de Salud
Universidad Antonio Nariño

Código del proyecto MinCiencias: SIGP 210471250745

Objetivo general:

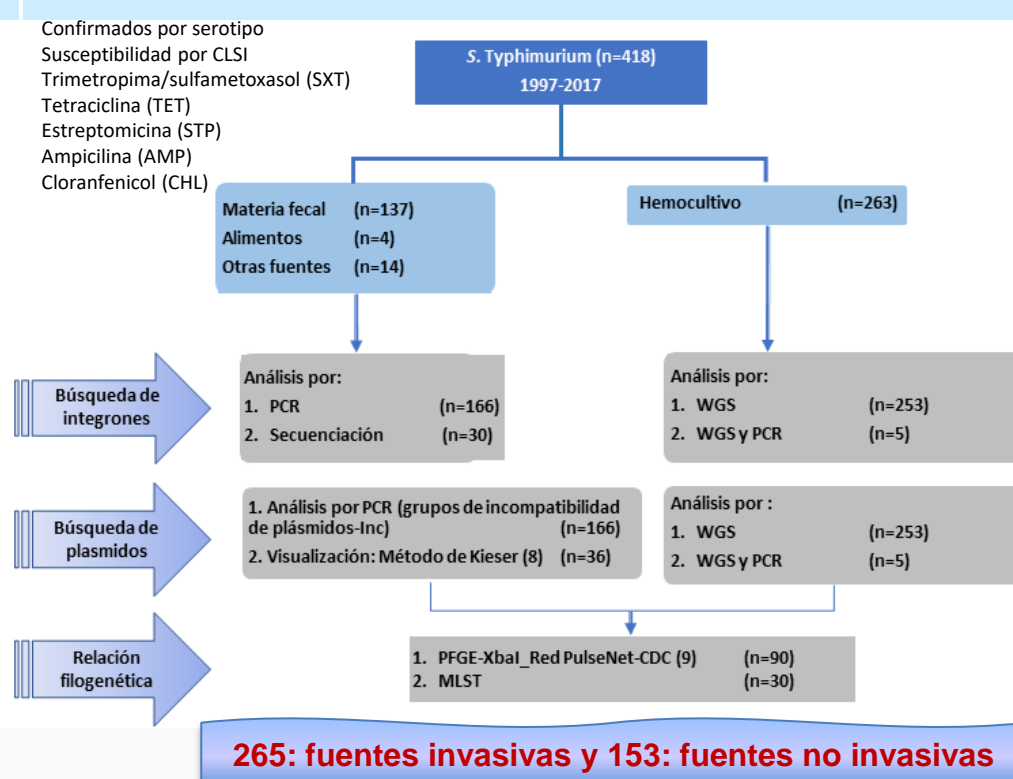
Determinar los elementos genéticos responsables de la multirresistencia observada en aislamientos clínicos de *S. Typhimurium* que se recuperan en el Grupo de Microbiología a partir del programa de vigilancia de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en Colombia.

1. Integrones de clase 1 presentes en aislamientos clínicos colombianos de *S. Typhimurium* resistentes a los antimicrobianos entre 1997-2017

Introducción

- En el mundo, *S. Typhimurium* es una de las principales causas de EDA, así como causante de Enfermedad Transmitida por alimentos (ETA), y actualmente es uno de los patógenos emergentes multirresistente a los antimicrobianos.
- Los integrones, son plataformas de captura y diseminación de genes de resistencia presentes en algunas enterobacterias.
- En Colombia, la vigilancia nacional por laboratorio de EDA mostró que Typhimurium es el principal serovar recuperado entre 1997 al 2016 con un 54% de los aislamientos multirresistentes.
- Este estudio busca identificar algunos de los determinantes genéticos que codifican para esa multirresistencia, incluyendo integrones de clase 1 (Int1).

Métodos



Resultados

El 36,6% (153/418) de los aislamientos portaban el Int1 y se describieron 9 tipos con diferencias en los genes de resistencias insertados.

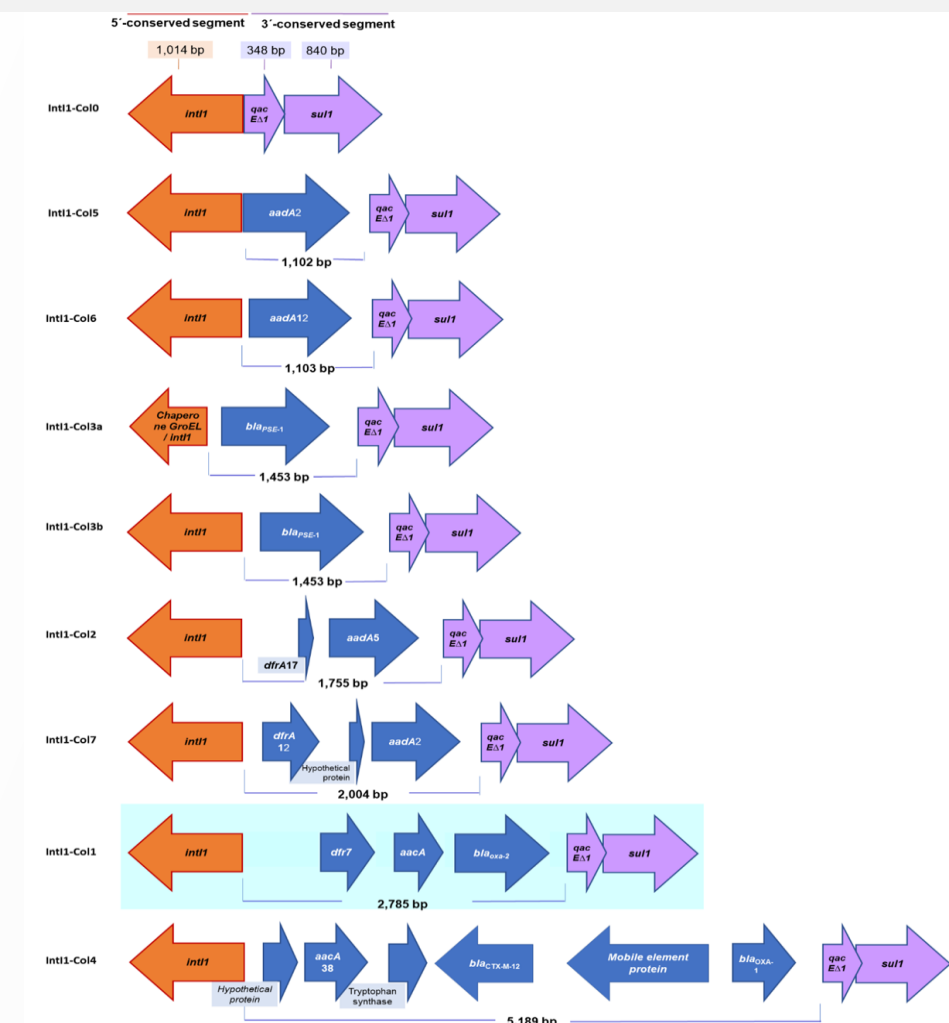


Figura 1. Int1 en aislamientos colombianos de Typhimurium. Se muestra el tamaño de la región variable y los genes de resistencia encontrados en los 9 tipos de Int1.

La mayoría de los aislamientos con Int1 fueron resistentes a: AMP-STR-SXT-TET (n=80), seguido de AMP-SXT-TET (n=26) y de AMP-CHL-STR-SXT-TET (n=16). El Int1-Col1 fue el predominante en el 75,2% (115/153) de los aislamientos, con los genes *dfrA7-aac-bla_{OXA-2}*, que le confieren resistencia a trimetoprima, aminoglucósidos y ampicilinas. De éstos, 60 portan plásmidos del grupo IncA/C solo o en coexistencia con otros grupos Inc. Aunque existen reportes internacionales de aislamientos de *E. coli* y *S. enterica* con este integrón, un reporte previo en aislamientos de *S. Typhimurium* y *S. Anatum* de alimentos en la costa norte colombiana, sugieren que este integrón es endémico en Colombia (O'Mahony et al., 2006), (CDC & FDA Antibiotic Resistance Isolate Bank (Rodríguez et al., 2008). Treinta y un aislamientos con los 9 tipos de Int1 son ST19. Este es el primer reporte del Int1-Col4.

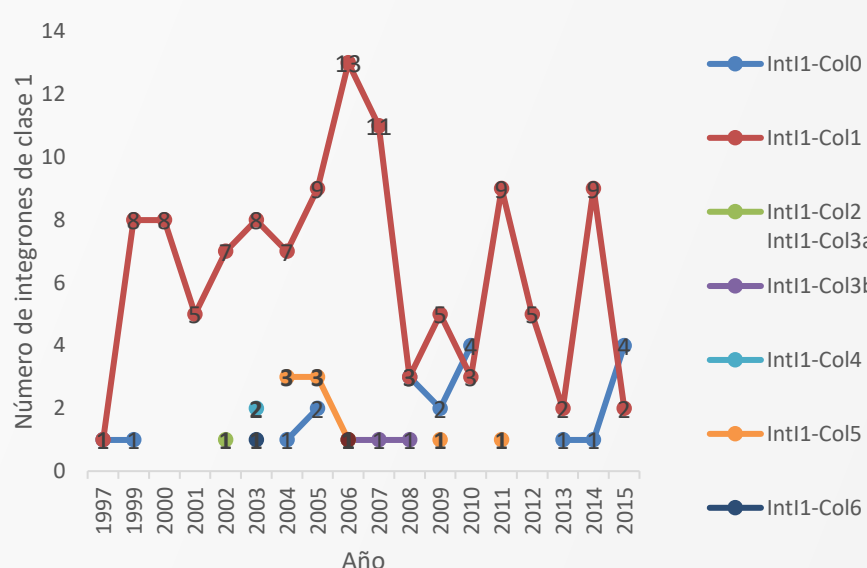


Figura 3. Distribución Int1 identificados desde 1997 hasta 2015. Int1-Col1 es el predominante en todos los años estudiados.

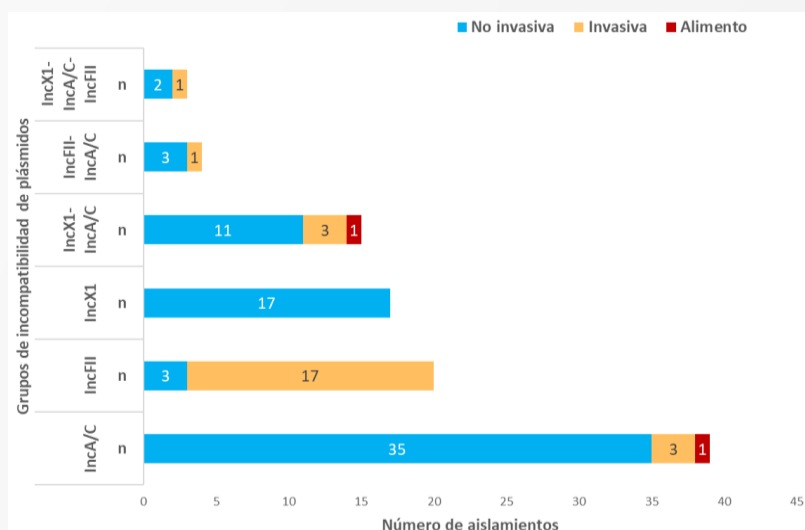


Figura 4. Grupos Inc de plásmidos y fuente. Los aislamientos de fuentes no invasivas portan principalmente plásmidos IncA/C; los de fuentes invasivas plásmidos IncF y en menor medida plásmidos IncA/C, solos o con otros grupos Inc.

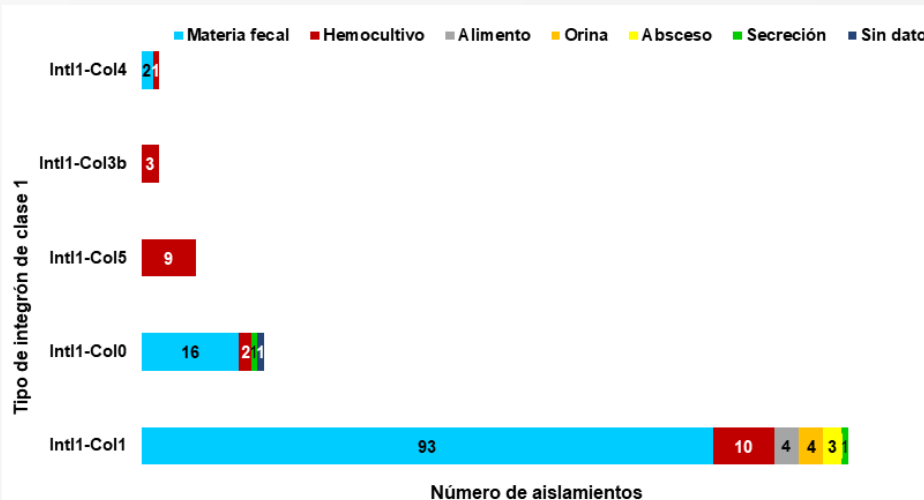


Figura 5. Integrones de clase 1 (n ≥ 3) y la fuente. El Int1-Col1 se encontró principalmente en aislamientos de materia fecal. Los Int1 identificados en una única fuente fueron Int1-Col2 e Int1-Col3a (en 1 aislamiento) de materia fecal; los Int1-Col3b, Int1-Col5, Int1-Col6 e Int1-Col7 de hemocultivo.

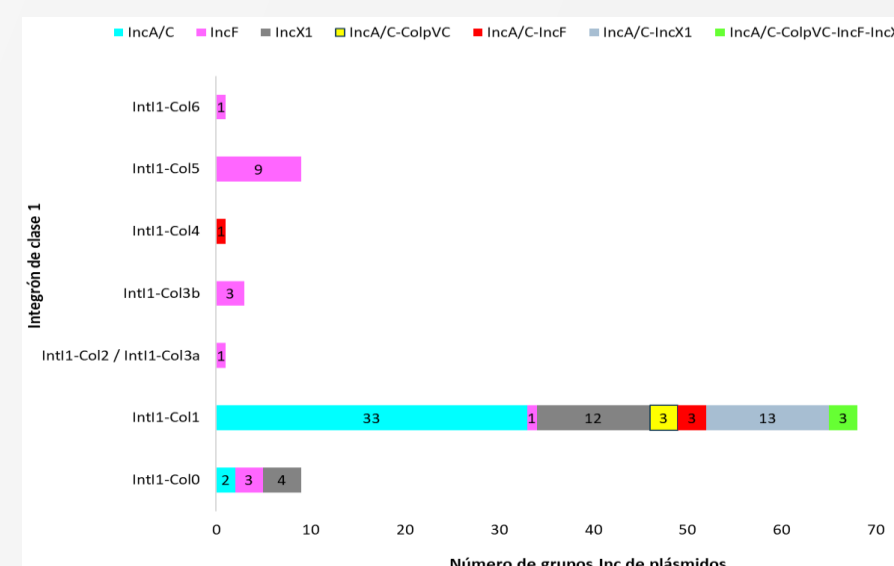
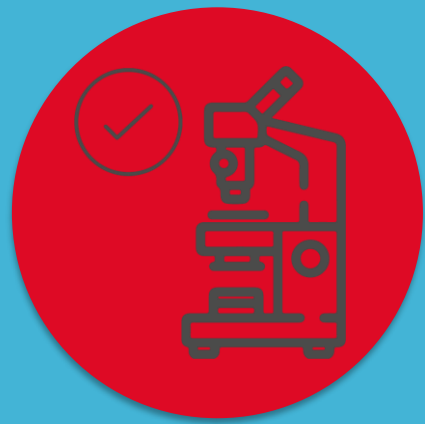


Figura 6. Integrones de clase 1 y grupos Inc (n ≥ 3). Los aislamientos con Int1-Col1 portan varios grupos Inc, entre los que sobresalen los IncA/C, IncX1 respectivamente; mientras que los Int1-Col2/Int1-Col3a, Int1-Col3b, Int1-Col5 e Int1-Col6 portan el grupo IncF.

Conclusiones

- En los aislamientos de *S. Typhimurium* clínicos se identificaron 9 Int1 que en su región variable portan genes que codifican para algunas de las resistencias identificadas previamente. Sobresalen los integrones Int1-Col1 e Int1-Col4, el primero por ser predominante en el país, asociado principalmente con fuentes no invasivas desde 1997; y el segundo por ser el primer reporte. Por su parte, los Int1-Col2/Int1-Col3a, Int1-Col3b, Int1-Col5 están localizados en el cromosoma bacteriano, se identificaron en bajo número y corresponden a variantes del clon DT104 disperso en el mundo.
- Los resultados sugieren una asociación entre el Int1-Col1 y los plásmidos IncA/C principalmente, seguido de IncX1, que podrían participar en su dispersión a través de transferencia horizontal.



Caracterización de los determinantes genéticos asociados a la multirresistencia en aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* subs. *enterica* serovar Typhimurium recuperados a partir del programa de vigilancia de Enfermedad Diarreica Aguda en Colombia

Entidades participantes: Instituto Nacional de Salud. Universidad Antonio Nariño.

Código del proyecto MinCiencias: SIGP 210471250745

Objetivo general:

Determinar los elementos genéticos responsables de la multirresistencia observada en aislamientos clínicos de *S. Typhimurium* que se recuperan en el grupo de Microbiología a partir del programa de vigilancia de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en Colombia.

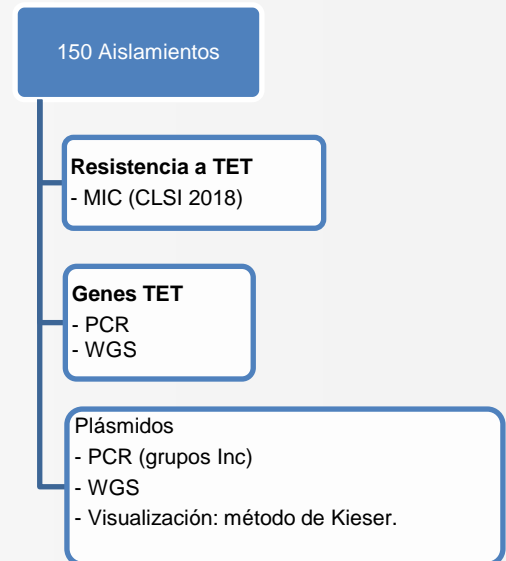
2. El gen *tetA* es predominante en aislamientos clínicos de *Salmonella Typhimurium* resistentes a tetraciclina provenientes de la vigilancia de la enfermedad diarreica aguda de 1997 a 2017

Introducción

El 77,7% (n=2167) de los aislamientos clínicos de *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*) recuperados entre los años 1997 y 2017 son resistentes a tetraciclina (TET), pero se desconoce los determinantes genéticos responsables de esta resistencia.

Objetivo: Establecer el determinante genético de la resistencia a TET en aislamientos clínicos de *S. Typhimurium*.

Métodos



Resultados

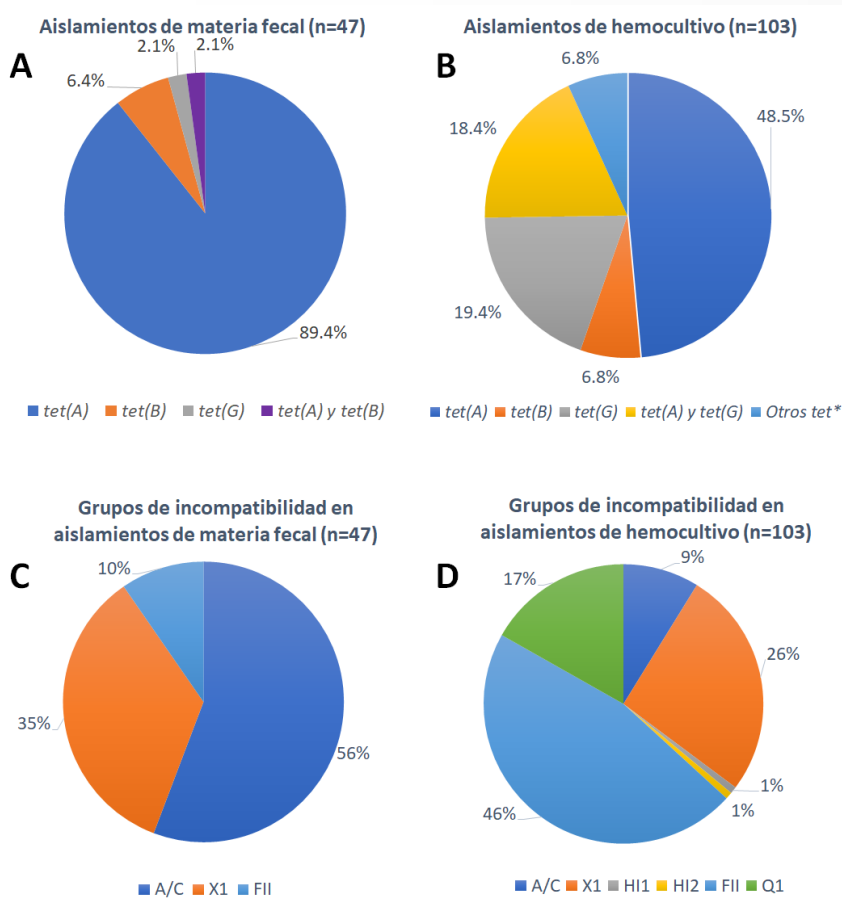


Figura 1. Distribución de proporción de genes en aislamientos clínicos de *S. Typhimurium*, recuperados materia fecal y hemocultivo. Se observa que *tetA* es el gen predominante en los dos tipos de muestra (A y B). El grupo IncA/C es predominante en materia fecal (C) mientras que el grupo IncFII en muestras de hemocultivo (D).

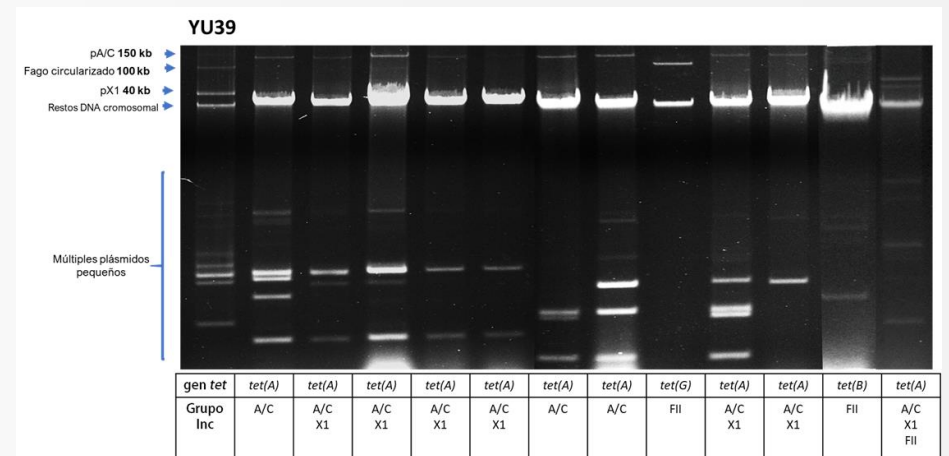


Figura 2. Perfil de plásmidos y correlación con los grupos Inc y genes *tet* identificados en aislamientos clínicos de *S. Typhimurium*. Se observa la presencia de 1 a 5 plásmidos en los aislamientos con *tetA*, *tetB*, mientras que el aislamiento con *tetG* muestra solo un plásmido de alto peso molecular.

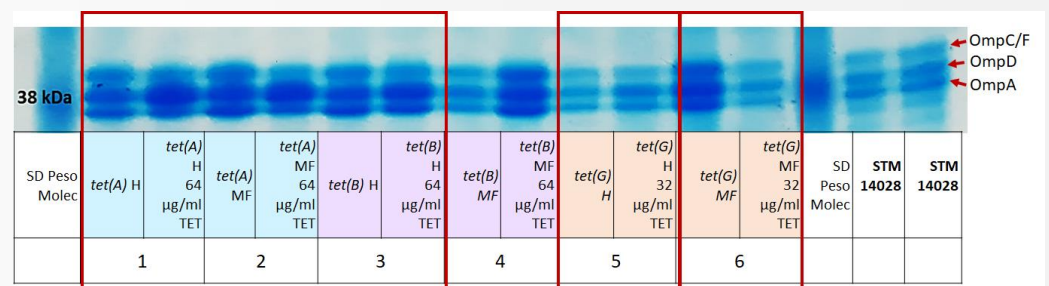


Figura 3. Comparación de la expresión de proteínas de membrana externa de *S. Typhimurium* con y sin inducción con tetraciclina (TET), en aislamientos que contienen los genes *tet(A)*, *tet(B)* y *tet(G)*, obtenidos de materia fecal (MF) o hemocultivo (H). Se utilizó 32 µg/ml o 64 µg/ml de TET para realizar la inducción, el control corresponde a *S. Typhimurium* 14028 ATCC.

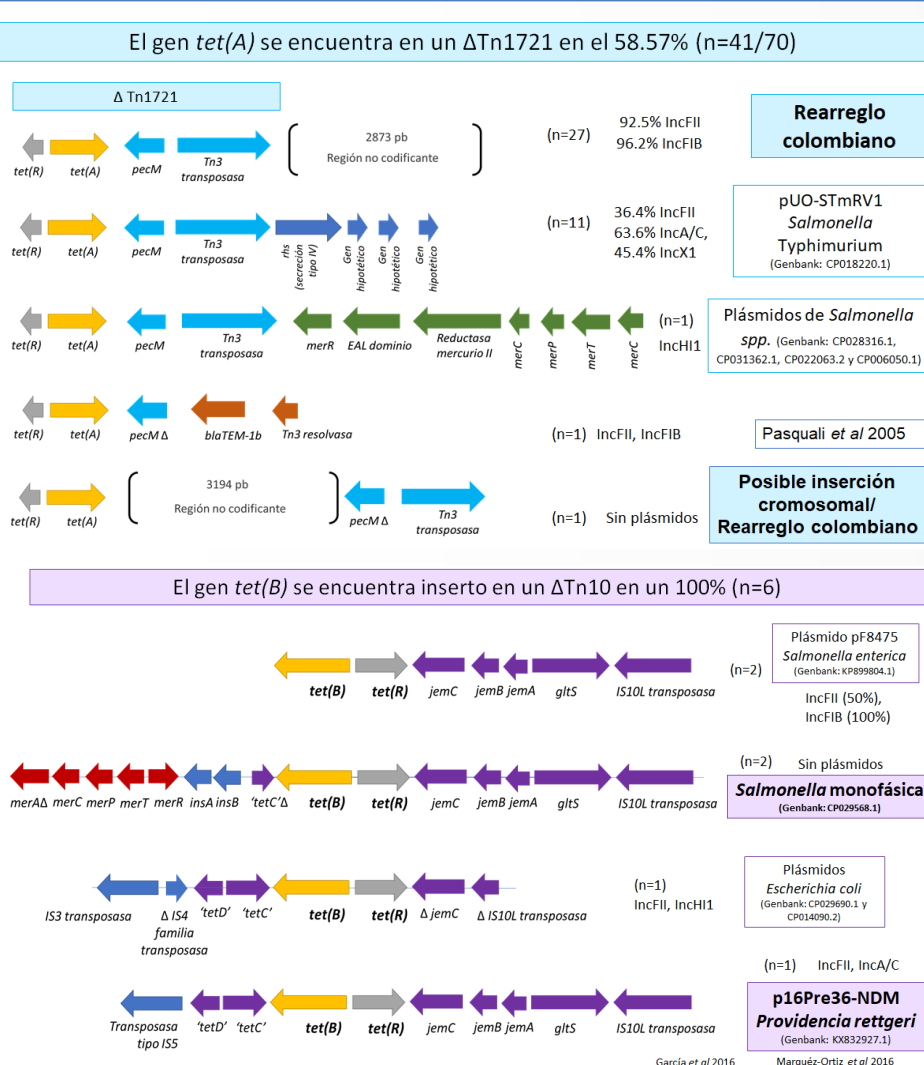


Figura 4. Diferentes perfiles genéticos que contienen los genes *tet(A)*, *tet(B)* o *tet(G)*, determinados por secuenciación de genoma completo (WGS) de aislamientos clínicos de *S. Typhimurium* en estudio. Los resultados sugieren que los genes *tet(A)* o *tet(B)* podrían ser portados en plásmidos o elementos genéticos movilizables. El gen *tet(G)* se encuentra inserto en la isla genómica 1 (SG1) en el cromosoma bacteriano.

Conclusiones

- La resistencia a la tetraciclina en aislados clínicos colombianos de Typhimurium depende principalmente del gen *tet(A)*, seguido de *tet(B)*.
- La similitud del entorno *tet(A)* con las secuencias de plásmidos sugiere que la transferencia horizontal es lo que podría explicar su amplia difusión.
- Los reordenamientos únicos asociados con el gen *tet(A)* sugieren una estructura única en la población de Typhimurium.
- Estudios posteriores de localización cromosómica o plasmídica podrían explicar la diferencia clonal y la mayor dispersión del gen *tet(A)* sobre *tet(B)*.

Agradecimientos

- Esta investigación fue financiada por el proyecto MinCiencias SIGP 210471250745, fondos internos del Instituto Nacional de Salud - Colombia y el Programa de Becas de ICETEX para Extranjeros en Colombia.
- Este trabajo fue desarrollado en los laboratorios del Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud - Colombia, y en colaboración con el Proyecto 10.000 Genomas de Salmonella - Universidad de Liverpool.
- Dirección de Redes en Salud Pública.