



# Estructura poblacional y epidemiología genómica de *Salmonella* en Perú

Junior Caro-Castro <sup>(1)</sup>, Frank Guzmán<sup>(1,2)</sup>, Willi Quino <sup>(1)</sup>, Diana Flores-León <sup>(1,3)</sup>, Ronnie G. Gavilán <sup>(1,3)</sup>

(1) Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú, (2) Universidad Científica del Sur, Lima, Perú, (3) Universidad Privada San Juan Bautista, Lima, Perú.

## Introducción

*Salmonella* es una de las causas más comunes de enfermedades transmitidas por los alimentos en todo el mundo, y es un problema de salud pública tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo. Decenas de millones de infecciones por *Salmonella* no tifoidea son reportadas en todo el mundo cada año (Scallan et al., 2011).

Para reducir el número de casos de *Salmonella*, las autoridades sanitarias enfatizan la necesidad de controlar su presencia a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta el consumo a través de un programa de vigilancia de acuerdo con la legislación local. Las pruebas empleadas involucran métodos microbiológicos y serológicos, los cuales muchas veces son insuficientes para evaluar el panorama epidemiológico y tomar acciones concretas para prevenir y controlar brotes de salmonelosis (Hugas y Beloeil, 2014). Debido a ello, en años recientes se apuesta por el empleo de la secuenciación de genoma completo, una herramienta poderosa para la subtipificación de patógenos, el seguimiento de fuentes hasta el origen de un brote, así como de la caracterización de la virulencia y el perfil genético de resistencia a los antimicrobianos de las más de 2500 serovariedades de *Salmonella* (Rantsiou et al., 2018).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la estructura poblacional de *Salmonella* no tífica en Perú entre 1999 y 2017, utilizando métodos de secuenciación de última generación.

## Metodología

**DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN:** El estudio incluyó 1000 cepas peruanas de *Salmonella* spp. recibidas por el Laboratorio de Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Salud (INS) entre los años 1999-2017.

**AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE *Salmonella* spp:** Las cepas fueron sembradas en Caldo Tripticosa Soya a 37 °C durante 8 horas. Posteriormente, fueron sembradas en Agar *Salmonella*-Shigella (SS) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. El género *Salmonella* fue confirmado utilizando pruebas bioquímicas convencionales, y se analizaron con antisueros de aglutinación O y H para la identificación del serotipo siguiendo el esquema de White-Kauffmann-Le Minor (Grimont y Weill, 2007).

**PREPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE BIBLIOTECAS:** La extracción del ADN genómico se realizó con el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Alemania). La concentración del ADN se cuantificó en un fluorómetro Qubit 3.0 (Invitrogen, Malasia). Las bibliotecas se realizaron con el kit de preparación Nextera XT (Illumina, EE. UU.) y la secuenciación genómica con un secuenciador MiSeq (Illumina, EE. UU.).

**ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO:** La calidad de la secuencia se evaluó mediante FastQC v0.11.5. Las secuencias se ensamblaron de novo utilizando A5-miseq. Las métricas de los ensamblajes fueron obtenidas utilizando el programa QUAST. Los serotipos in silico se asignaron mediante SeqSero2, mientras que los genotipos se asignaron mediante MLST (<https://pubmlst.org/organisms/salmonella-spp>). Además, se ejecutó un cgMLST para visualizar la estructura poblacional de las cepas mediante el programa chewBACCA (Silva et al., 2018).

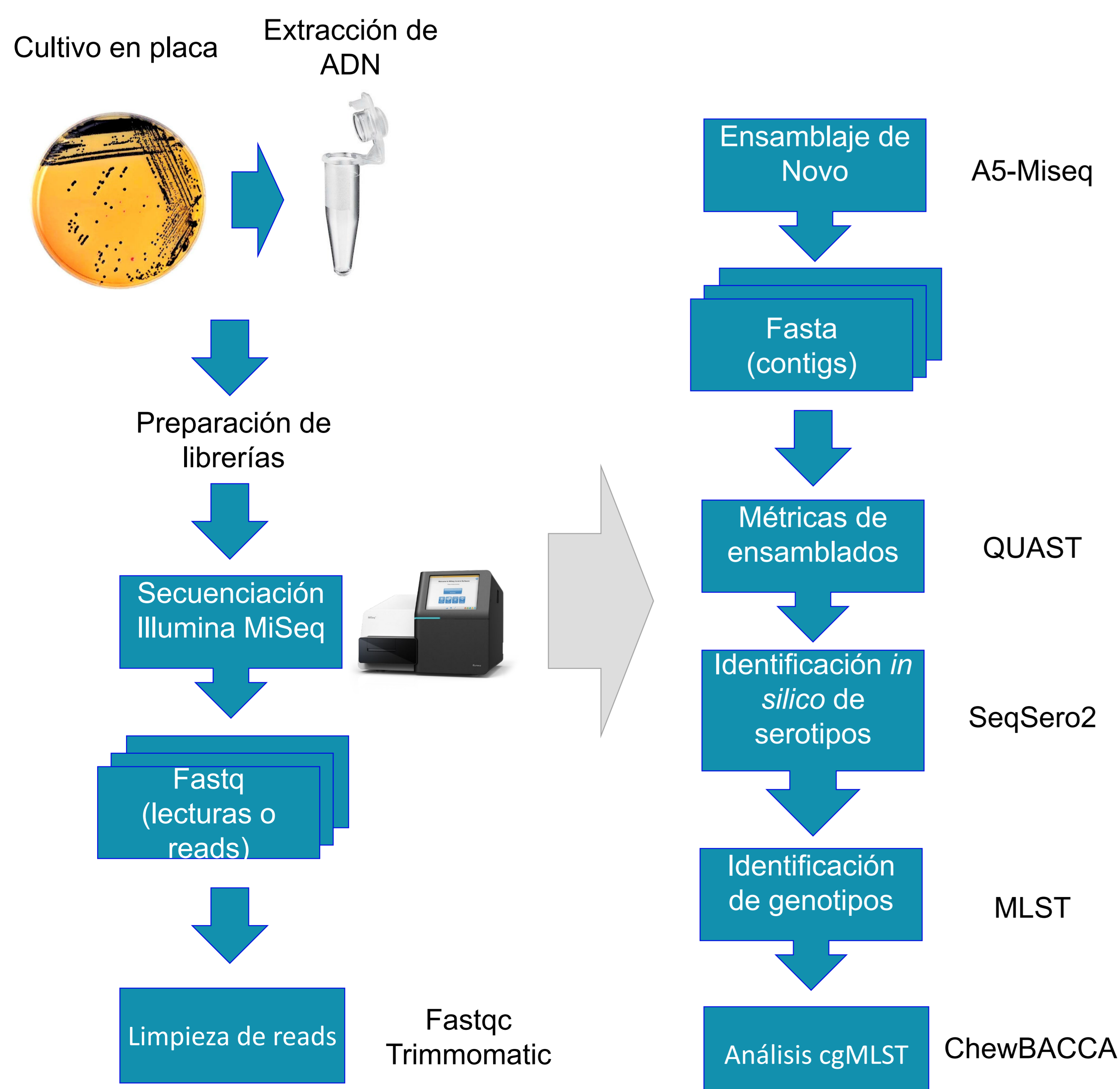


Figura 1. Flujograma de análisis bioinformático empleado en el estudio genómico de *Salmonella*

## Resultados y discusión

**DETERMINACIÓN IN SILICO DE LOS SEROTIPOS DE *Salmonella* spp:** De las 1000 cepas de *Salmonella* spp. secuenciadas, 97 de ellas presentaron baja calidad, siendo excluidas de los análisis. Del total restante (903), se identificaron un total de 41 serotipos diferentes. El 26.8% correspondió al serotipo Enteritidis, 21.7% a Infantis y 13.3% a Typhimurium.

**GENOTIPOS DE *Salmonella* spp. CIRCULANTES EN PERÚ:** Se detectaron 39 ST diferentes según MLST. Los genotipos más frecuentes fueron el ST-11 (22.1%), ST-32 (19.6%) y ST-19 (12.5%) (Tabla 1), correspondientes a los serotipos Enteritidis, Infantis y Typhimurium, respectivamente.

Tabla 1. Frecuencia de genotipos de *Salmonella* spp. por MLST incluidas en el estudio.

Genotipo (MLST)	Serotipo	Nº de cepas	Porcentaje
ST-11	Enteritidis	221	24.5%
ST-32	Infantis	196	21.7%
ST-19	Typhimurium	125	13.8%
ST-31	Newport	68	7.5%
ST-413	Mbandaka	49	5.4%
Otros ST (34)	Diversos	136	15.1%
No clasificadas	Diversos	108	12%
<b>Total</b>	-	<b>903</b>	<b>100%</b>

**ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *Salmonella* spp. EN PERÚ:** El 95% de las 903 cepas presentaron 3152 genes compartidos que fueron incluidos en el cgMLST. La estructura poblacional, graficada a modo de árbol recubridor mínimo (MST), reveló la amplia diversidad de genotipos circulantes en Perú, siendo los serotipos Enteritidis, Infantis y Typhimurium los más predominantes, un frecuencia semejante a lo observado en otras partes del mundo (Rantsiou et al., 2018).

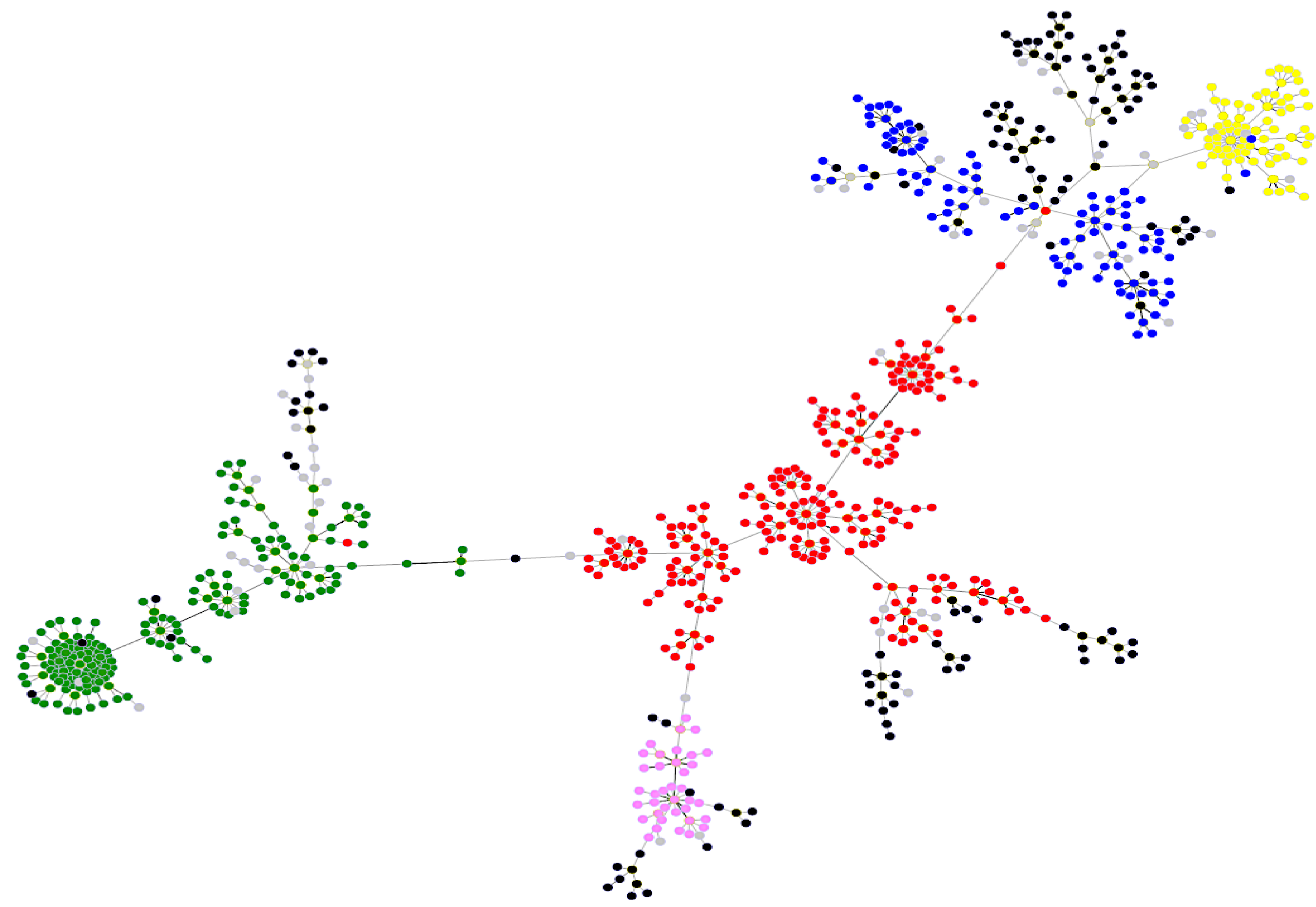


Figura 2. MST de *Salmonella* spp. secuenciados en Perú. Cada cepa es visualizada por un nodo. En rojo: Enteritidis, en verde: Infantis, en azul: Typhimurium, en amarillo: Newport, en rosado: Mbandaka, en negro: otros serotipos, y en gris: cepas no clasificadas bajo ningún serotipo.

## Conclusiones

- *S. Enteritidis* es el serotipo más frecuente en el Perú, asociado principalmente al genotipo ST-11, y protagonista de diversos brotes alimentarios principalmente en Lima.
- *S. Infantis* es el segundo serotipo más frecuente, asociado al genotipo ST-32, poseedor de un megaplásmido que le confiere resistencia a múltiples antibióticos.
- Además, se reporta la circulación de otros serotipos con importancia clínica tales como *S. Typhimurium*, *S. Newport* y *S. Mbandaka*. Se enfatiza incrementar los estudios de secuenciación de genoma completo para comprender la epidemiología molecular de *Salmonella* en el Perú.

## Referencias

1. Scallan E et al. 2011. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerging infectious diseases* (1), vol 17, 7–15.
2. Hugas M & Beloeil P. 2014. Controlling *Salmonella* along the food chain in the European Union - progress over the last ten years. *Euro surveillance* (19), vol 19, 20804.
3. Rantsiou K, et al. 2018. Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing for foodborne pathogen surveillance. *Int. J. Food Microbiol.*, vol 287, 3–9.
4. Silva M et al. 2018. chewBBACA: A complete suite for gene-by-gene schema creation and strain identification. *Microbial genomics* (3), vol 4, e000166.