



Dinámica epidemiológica de Salmonella en Perú durante los últimos 20 años

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

(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 principales causas de morbilidad y mortalidad infantil en muchos países en desarrollo de todo el mundo. El impacto de la salmonelosis no tifoidea (NTS) en la salud humana mundial es elevado, con una estimación de 93,8 millones de casos. En América Latina, Asia y África, la incidencia reportada de *Salmonella* es de 200 a 500 casos por 100.000 habitantes al año. Debido a que la transmisión de *Salmonella* de persona a persona es poco común, los alimentos se consideran la principal fuente de exposición humana, y se estima que el 95 % de dichas infecciones están relacionadas con alimentos de origen animal (Muvhali et al., 2017). En Perú, algunos estudios de vigilancia epidemiológica señalan que los serovares de *Salmonella* reportados con mayor frecuencias son S. Infantis, S. Enteritidis y S. Typhimurium (Quino et al., 2020), aunque la mayor parte de estos reportes se basan netamente en resultados obtenidos por metodologías convencionales que resultan insuficientes para tomar acciones concretas sobre prevención y control de brotes. Debido a ello, en los últimos años se apuesta por el empleo de la secuenciación de genoma completo, una herramienta poderosa para la tipificación molecular de patógenos, el seguimiento de fuentes hasta el origen de un brote, así como de la caracterización de la virulencia y resistencia a los antimicrobianos de las cepas de *Salmonella* (Rantsiou et al., 2018). Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la dinámica epidemiológica de *Salmonella* no tífica en Perú durante los últimos 20 años, 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 1998-2018.

AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE *Salmonella* spp: Las cepas fueron sembradas en Caldo TSB a 37 °C durante 8 horas. Posteriormente, fueron sembradas en Agar SS y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. El género *Salmonella* fue confirmado utilizando pruebas bioquímicas convencionales, mientras que el serotipo se determinó siguiendo el esquema de White-Kauffmann-Le Minor (Grimont y Weill, 2007).

PREPARACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE BIBLIOTECAS: La extracción del ADN 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 y la secuenciación genómica con un secuenciador MiSeq (Illumina, EE. UU.).

ANÁLISIS GENÓMICO: 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 secuenciotipos (ST) se asignaron mediante MLST. Los clados fueron obtenidos mediante el programa RaxML.

DINÁMICA EPIDEMIOLÓGICA: Se creó una base de datos de todas las cepas recibidas por el laboratorio entre los años 1998-2018, los cuales se cargaron en el programa R para generar un diagrama de violín, utilizando la biblioteca ggplot2. La gráfica resultante fue asociada con los principales hallazgos de los análisis genómicos.

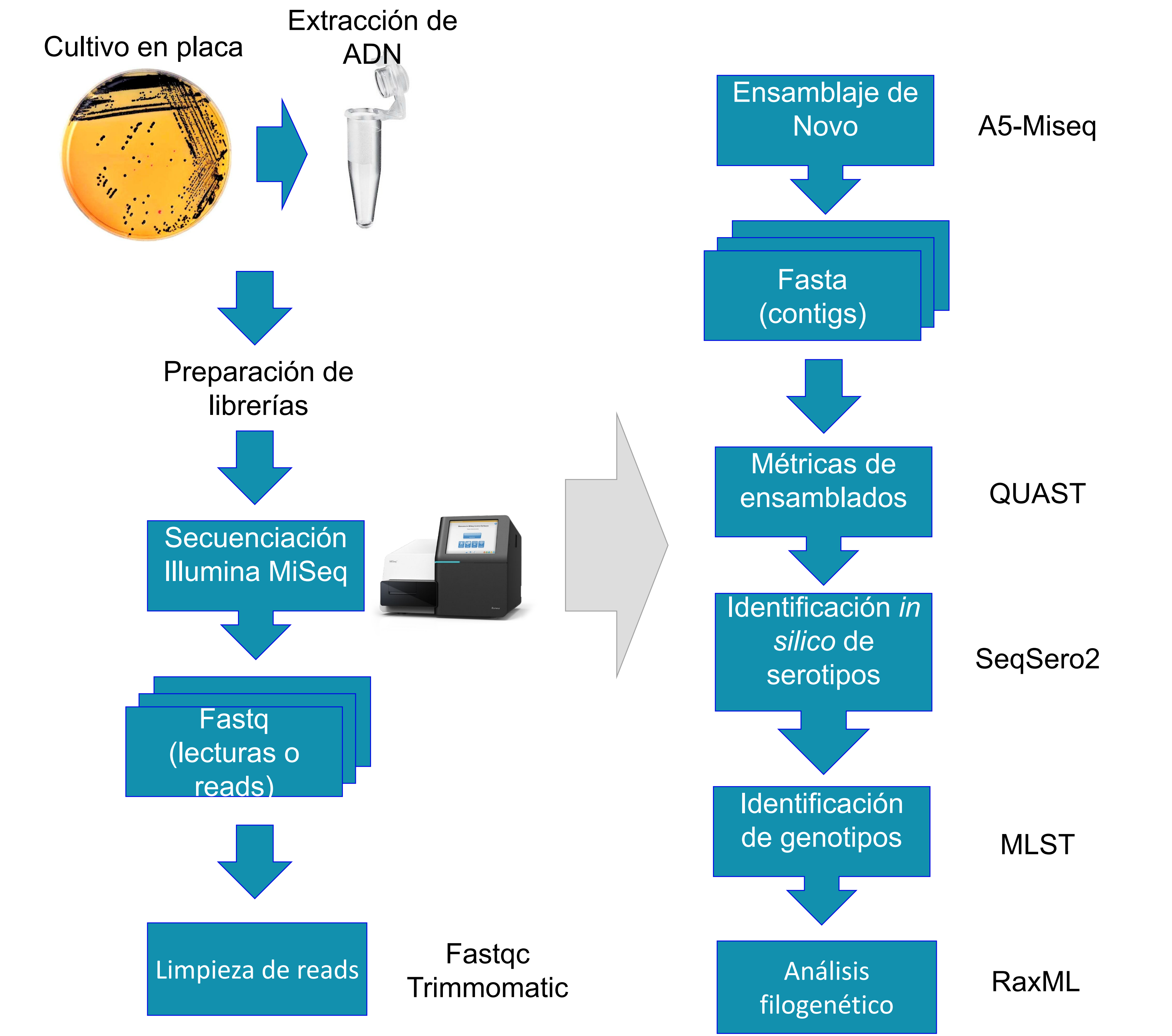


Figura 1. Flujo de análisis bioinformático empleado en el estudio genómico de *Salmonella*

Resultados y discusión

DETERMINACIÓN IN SILICO DE LOS SEROTIPOS DE *Salmonella* spp: De las 1000 cepas de *Salmonella* spp. secuenciadas, 158 presentaron baja calidad, siendo excluidas de los análisis. Al total restante (842), se les sumó otros 280 genomas recuperados del GenBank, formando un total de 1122 genomas de cepas peruanas

GENOTIPOS DE *Salmonella* spp. CIRCULANTES EN PERÚ: Se detectaron 40 ST diferentes según MLST. Los genotipos mas frecuentes se indican en la Tabla 1.

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

Genotipo (MLST)	Serotipo	Nº de cepas	Porcentaje
ST-32	Infantis	418	37.3%
ST-11	Enteritidis	267	23.8%
ST-19	Typhimurium	159	14.2%
ST-31	Newport	76	6.8%
ST-413	Mbandaka	53	4.7%
Otros ST (35)	Diversos	149	13.3%
Total	-	1122	100%

DINÁMICA EPIDEMIOLÓGICA DE *Salmonella* no tífica EN PERÚ: La distribución de las cepas remitida al INS reveló el predominio de S. Enteritidis y S. Typhimurium sobre los otros serotipos reportados desde 1998 hasta principios de 2012 Si bien la frecuencia de S. Enteritidis disminuyó con el tiempo, la frecuencia de S. Typhimurium se mantuvo constante durante todo el período antes mencionado (Figura 2, Periodo A). El cambio más significativo se produjo en 2010, con la aparición abrupta de múltiples reportes de S. Infantis, desplazando a los dos serotipos más frecuentes hasta esa fecha y ocupando la primera posición hasta 2018. Asimismo, se produjo la emergencia de la resistencia antimicrobiana a los betalactámicos (genes blaCTX-M) y a la colistina (genes mcr) (Figura 2, Periodo B) (Figura 2).

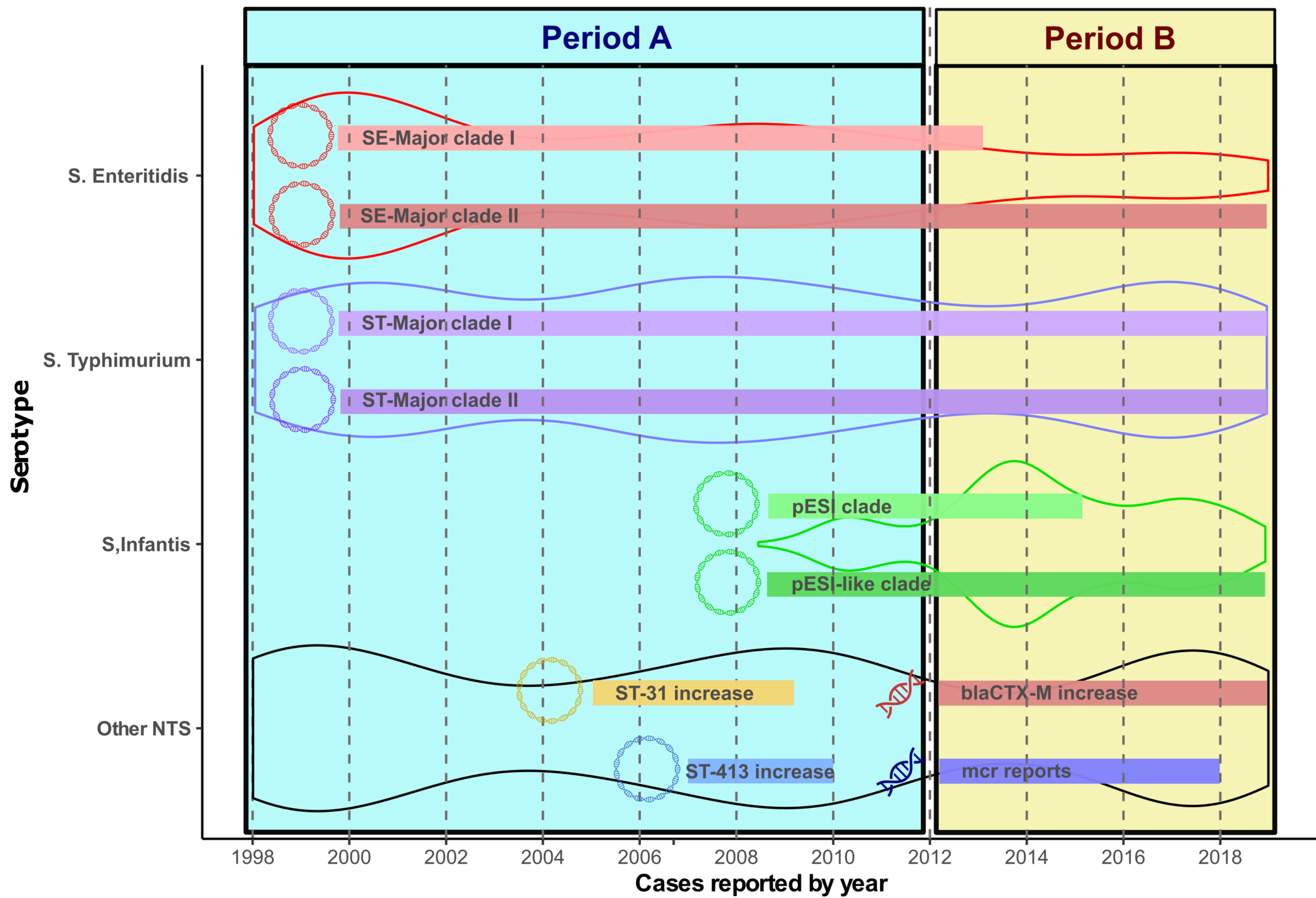


Figura 2. Dinámica epidemiológica de *Salmonella* no tífica secuenciados en Perú. Los diagramas de violín indican la cantidad de aislados recuperados por año. Cada serotipo es graficado con un color diferente. En rojo: Enteritidis, en azul: Typhimurium, en verde: Infantis, en negro: Otros serotipos. Se remarcan los principales hallazgos definidos por genómica.

Conclusiones

- S. Infantis es el serotipo mas frecuente de Perú en la actualidad, asociado al genotipo ST-32, poseedor de un megaplásmido (pESI) que le confiere resistencia a múltiples antibióticos como los betalactámicos.
- S. Enteritidis y S. Typhimurium son los serotipos que comparten una alta frecuencia histórica en el Perú, y si bien se han visto desplazados por S. Infantis, aún siguen siendo responsable de numerosos brotes en el país.
- Además, se reporta la circulación de otros serotipos con importancia clínica tales como 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

- Muvhali et al. (2017). Investigation of Salmonella Enteritidis outbreaks in South Africa using multi-locus variable-number tandem-repeats analysis, 2013-2015. BMC infectious diseases, 17, 661.
- Quino et al. (2020). Patrones de resistencia a los antimicrobianos en serovares de Salmonella enterica en Perú, 2012-2015. Revista chilena de infectología, 37, 395-401.
- Rantsiou K, et al. (2018). Next generation microbiological risk assessment: opportunities of whole genome sequencing for foodborne pathogen surveillance. Int. J. Food Microbiol., 287, 3–9.
- Grimont P y Weill (2007). Antigenic formulae of Salmonella serovars. 9th edition. World Health Organization. 166 pp.