

Estudio de tolerancia a metales en *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo 4,[5],12:i:-

Arrieta-Gisasola A.^{1,2}, Garaiburu-Ramos N.¹, Martínez-Malaxetxebarria I.^{1,2}, Martínez-Ballesteros I.^{1,2}, Bikandi J.^{1,2}, Garrido V.³, Grilló M.J.³, Laorden L.^{1,2}

¹ Universidad del País Vasco (UPV/EHU)/Facultad de Farmacia/Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología/Grupo Mikrolker. Vitoria-Gasteiz, Álava.

² Instituto de Investigación Sanitaria Bioaraba/Microbiología, Enfermedades Infecciosas, Agentes Antimicrobianos y Terapia Génica. Vitoria-Gasteiz, Álava.

³ Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-Gobierno de Navarra)/Grupo de Sanidad Animal. Mutilva, Navarra.

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es la segunda zoonosis de transmisión alimentaria más reportada en humanos en Europa, siendo la variante monofásica de *Salmonella* Typhimurium (4,[5],12:i:-) el principal serotipo detectado en España¹. La prevalencia creciente que este serotipo ha experimentado desde 2015 en el ganado porcino, podía estar asociada al uso de metales pesados como desinfectantes y/o aditivos alimentarios presentes en los piensos^{2,3}.

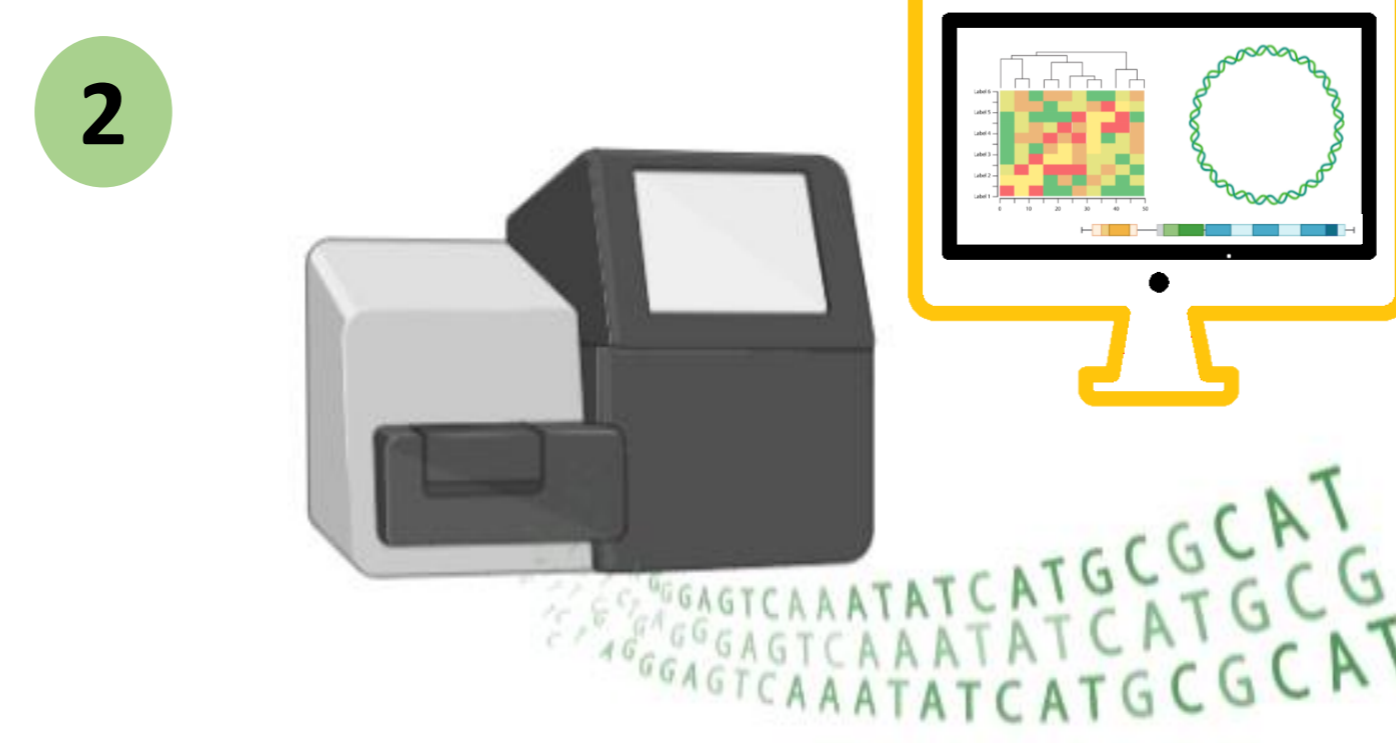
OBJETIVOS

Analizar, en una colección de cepas de *Salmonella* 4,[5],12:i:- de origen porcino y humano: (i) la presencia de genes de resistencia a metales pesados (*silA* y *silE* a plata y *merA* a mercurio) y elementos genéticos móviles (EGMs; SGI-4, pUO-STmRV1 y pUO-STVR2) portadores de dichos genes; y (ii) la posible relación entre estos genotipos y los fenotipos de resistencia a AgNO₃ y HgCl₂.

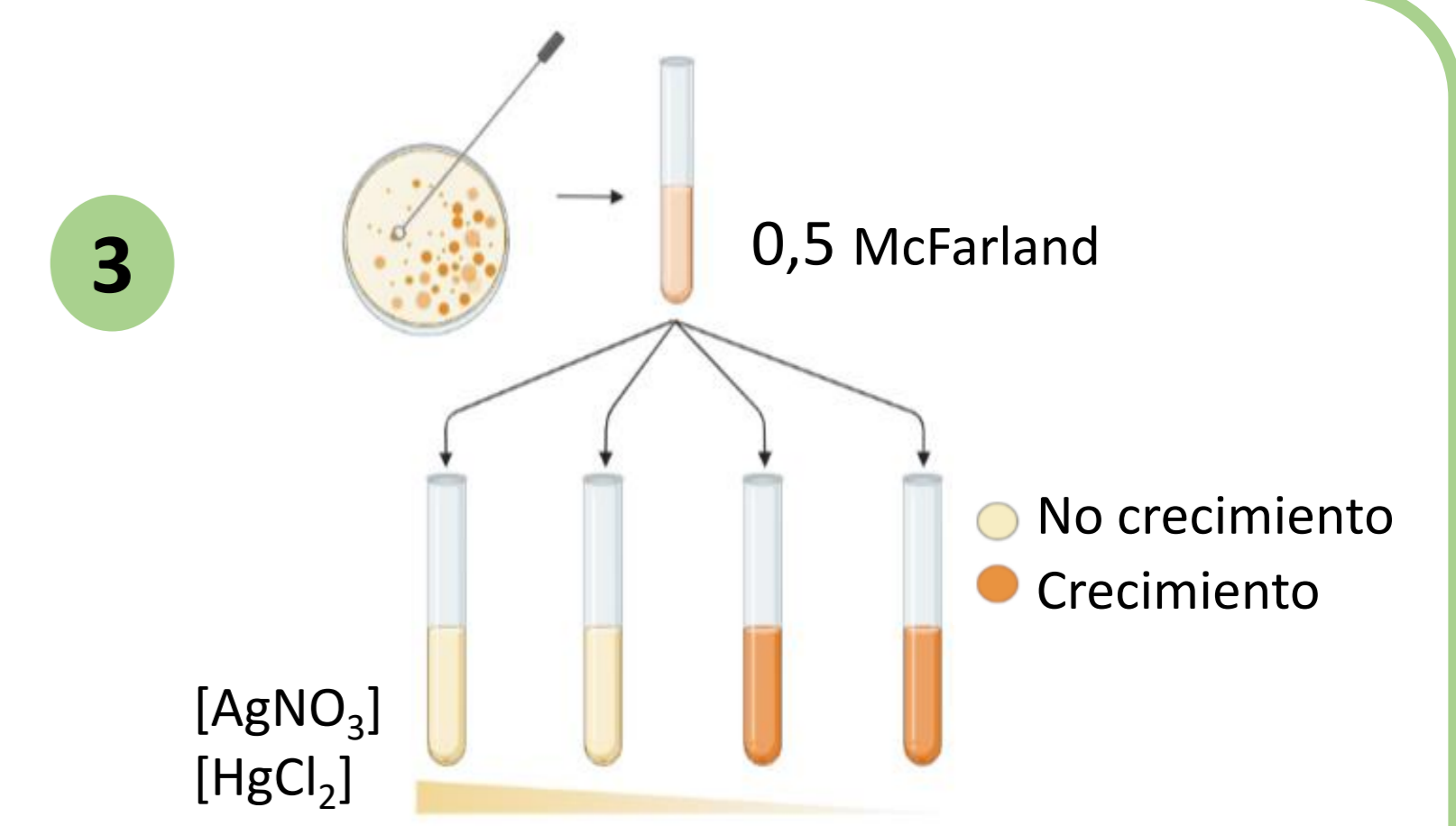
MATERIALES Y MÉTODOS



1
 Cepas: 28 cepas de *S.* 4,[5],12:i:- y 4 cepas de *S.* Typhimurium, procedentes de cerdos asintomáticos y de casos clínicos humanos.



2
 Secuenciación de sus genomas mediante Illumina Miseq. Análisis bioinformático para la detección de *silA*, *silE*, *merA*, isla genómica SGI-4 y los plásmidos pUO-STmRV1 y pUO-STVR2.



3
 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a AgNO₃ o HgCl₂. La cepa *S.* Typhimurium ATCC 14028 se utilizó como control negativo.

RESULTADOS

Los genes *silA* y *silE* se detectaron en 21/28 (75%) de las cepas monofásicas y en 1/4 (25%) de las *S.* Typhimurium. De las monofásicas, 13/21 (61,9%) mostraron ambos genes en la isla genómica SGI-4, al igual que la cepa *S.* Typhimurium; y las restantes 8/21 (38,1%) cepas, los portaban en el plásmido pUO-STmRV1 (Figura 1). En el grupo SGI-4, la CMI frente a AgNO₃ fue entre 2 y 8 veces superior a la del grupo pUO-STmRV1 y el control (Figura 2A). El gen *merA* se detectó en un total de 17/32 (53,12%) de las cepas analizadas, de las que sólo 2 eran *S.* Typhimurium y 15 (88,2%) eran monofásicas. Mientras que las primeras lo portaban en el plásmido pUO-STVR2, las monofásicas lo mostraron en el plásmido pUO-STmRV1 (n=8) o en un lugar diferente a los EMGs analizados (Figura 1). Independientemente de su localización, 16/17 (94,1%) de las cepas portadoras del gen *merA* mostraron una CMI frente a HgCl₂ entre 2 y 4 veces superior a la de la cepa control (Figura 2B).

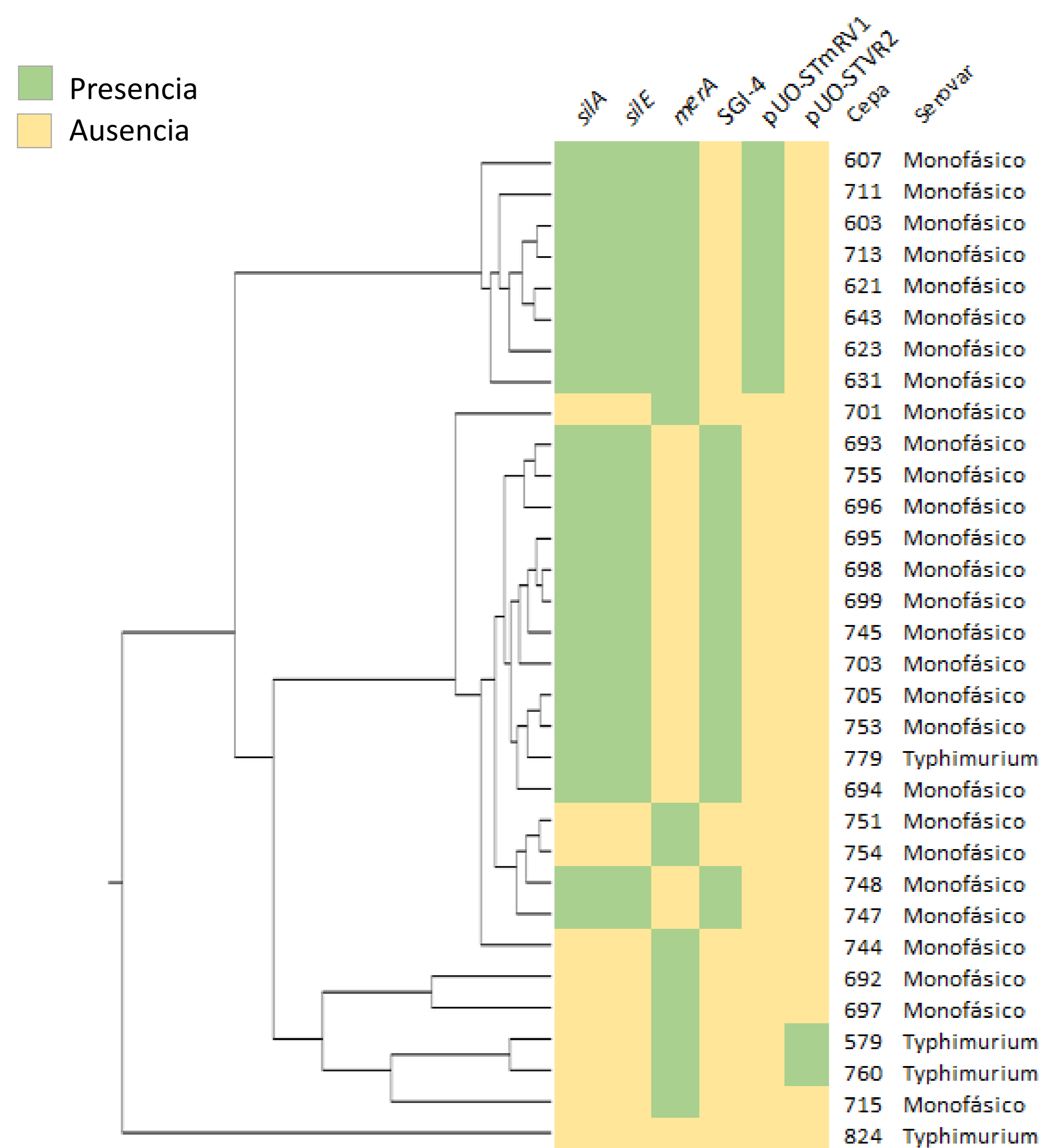


Figura 1. Presencia (verde) o ausencia (amarillo) de *silA*, *silE*, *merA*, SGI-4, pUO-STmRV1 y pUO-STVR2 en las 32 cepas de *Salmonella* analizadas en este estudio. El dendrograma está basado en los alelos de 3002 genes del core descritos para *Salmonella* en EnteroBase.

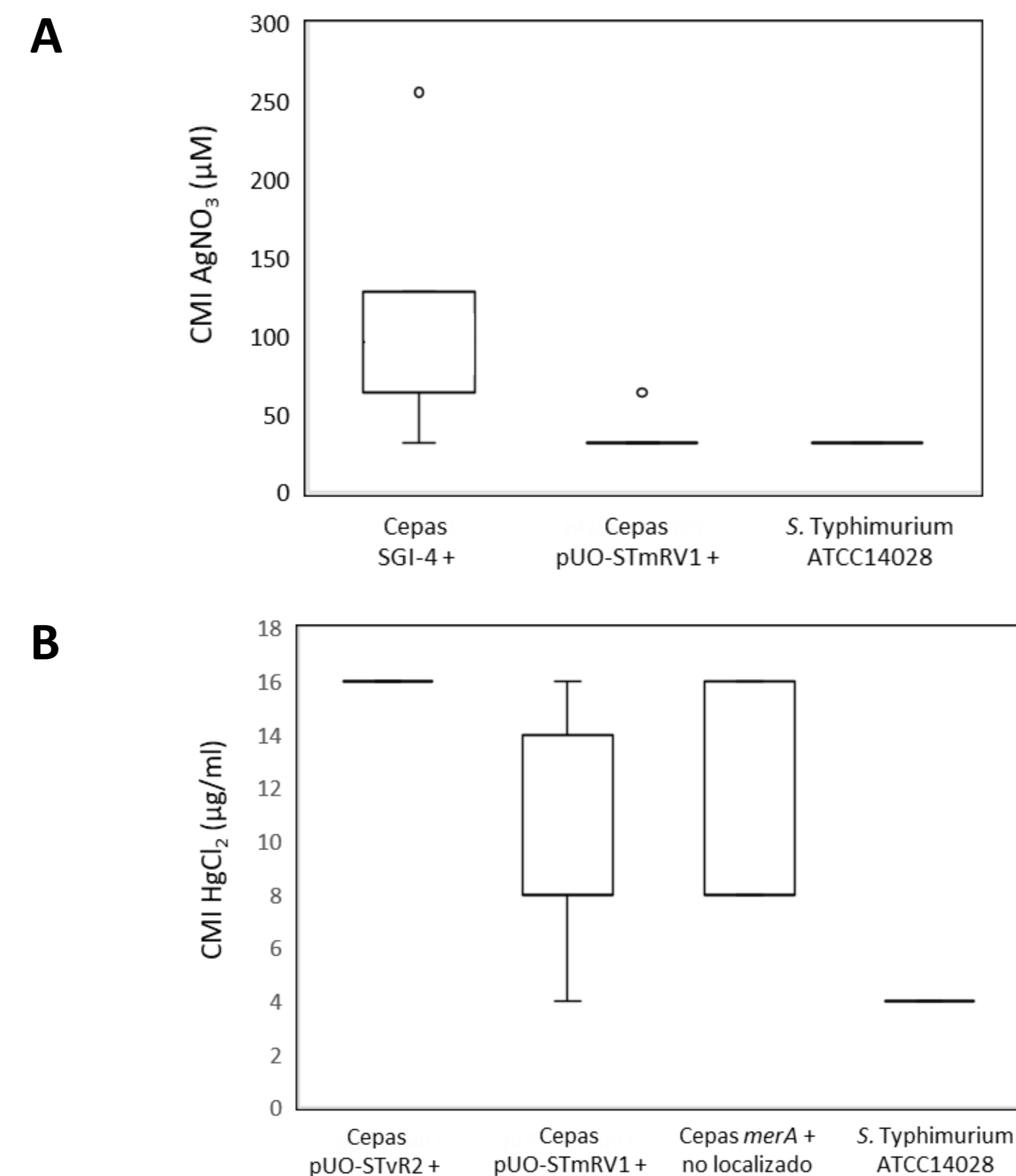


Figura 2. Resistencia a plata y/o mercurio en 32 cepas de *Salmonella* de origen porcino y humano. (A) Valores de CMI frente a AgNO₃ en las 22/32 cepas portadoras de los genes *silA* y *silE* en SGI-4 (n=14) o en pUO-STmRV1 (n=8); (B) Valores de CMI frente a HgCl₂ en las 17/32 cepas portadoras del gen *merA* en pUO-STVR2 (n=2), pUO-STmRV1 (n=8) o en localización no determinada (n=7). Los diagramas de cajas representan los valores de CMI obtenidos con el 99% de las cepas, agrupadas en función de la localización genética de los genes estudiados; y los círculos representan los valores atípicos. La cepa ATCC 14028 se utilizó como control negativo.

CONCLUSIONES

La alta prevalencia de elementos genéticos móviles que confieren tolerancia frente a metales podría ser una de las causas de la adaptación y el éxito evolutivo de *Salmonella* 4,[5],12:i:- en el sector porcino. Actualmente, se están realizando nuevos estudios para determinar la implicación de los EMGs estudiados en la resistencia frente a otros metales como cobre, zinc y arsénico. Además, determinar la ubicación del gen de resistencia *merA* se convierte en un reto importante en las cepas *Salmonella* 4,[5],12:i:- de esta colección, ya que podría estar localizado en un EGM no descrito hasta la fecha.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] EFSA, ECDC. EFSA Journal, 2021,19(12).
 [2] Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003. Publications Office of the European Union, 2022.
 [3] L. Petrovska, et al. Emerging Infectious Diseases, 2016, 22(4), 617-624.

AGRADECIMIENTOS

Arrieta-Gisasola A. agradece a la UPV/EHU por su contrato como personal investigador predoctoral en formación (PIF19/290).