



INFORME BREVE

Bacteriemia por *Salmonella enterica* no Typhi atípica, lactosa positiva, lisina decarboxilasa negativa



Susana D. García^{a,b,*}, María I. Caffer^c, Marisa N. Almuzara^{a,b},
Ángela M.R. Famiglietti^{a,b}, Cristina Myburg^d, María R. Viñas^c,
Jorge Risso^d y Carlos A. Vay^{a,b}

^a Departamento de Bioquímica, Clínica. Hospital de Clínicas «Gral. José de San Martín», Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^b Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Cátedra de Microbiología Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^c Departamento de Bacteriología, INEL- ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán», Buenos Aires, Argentina

^d División 5ta Cátedra de Medicina Interna. Hospital de Clínicas «Gral. José de San Martín», Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Disponible en Internet el 17 de noviembre de 2024

PALABRAS CLAVE

Salmonella atípica;
Salmonella lactosa
positiva;
Salmonella lisina
negativa

Resumen Se describe por primera vez en Argentina el aislamiento de *Salmonella enterica* no Typhi fermentadora de lactosa y lisina decarboxilasa negativa; este se obtuvo del hemocultivo de una paciente con lupus eritematoso sistémico. El microorganismo fue identificado como *S. enterica* (score: 2,148) mediante espectrometría de masas; el sistema VITEK® 2 lo identificó como grupo *Salmonella* (discriminación: 86%) y las pruebas bioquímicas como complejo *Citrobacter freundii*. La reacción serológica con el antisuero polivalente OMA para el antígeno somático fue positiva. En el Centro Nacional de Referencia ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, se confirmó su identidad como *Salmonella* subesp. I 4,[5],12:i:- atípica. La espectrometría de masas resultó especialmente útil en la identificación microbiana en presencia de atipias; en estos casos, las pruebas bioquímicas pueden llevar a una identificación errónea. Se advierte sobre la circulación de esta cepa en Argentina.

© 2024 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Argentina de Microbiología. Este es un artículo Open Access bajo la CC BY-NC-ND licencia (<http://creativecommons.org/licencias/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Atypical *Salmonella*;
Lactose-positive
Salmonella;
Lysine decarboxylase-
negative
Salmonella

Atypical non-Typhi *Salmonella enterica* bacteremia, lactose-positive, lysine decarboxylase-negative

Abstract We describe here the first isolation in Argentina of a lactose-fermenting and lysine decarboxylase-negative non-Typhi *Salmonella enterica* from a blood culture of a patient with systemic lupus erythematosus. The microorganism was identified as *S. enterica* (score: 2.148) by mass spectrometry, as “*Salmonella* group” (discrimination: 86%) by the VITEK® 2 system

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: biosgarcia@yahoo.com.ar (S.D. García).

and as *Citrobacter freundii* complex by biochemical tests. The serological test using the OMA antiserum for the somatic antigen was positive. The identification was confirmed as *Salmonella* subsp. I 4,[5],12:i:- atypical at the National Reference Center ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. Mass spectrometry is especially useful in microbial identification in the presence of atypia, while biochemical tests can lead to misidentification in these cases. This study warns about the circulation of this strain in Argentina.

© 2024 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Asociación Argentina de Microbiología. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Las serovariedades de *Salmonella enterica*, excluidas *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Paratyphi, habitualmente causan gastroenteritis en humanos que consumen alimentos contaminados. En pacientes con alteraciones de la inmunidad celular (enfermedades del tejido conectivo, SIDA, otras) y hemoglobinopatías, estas bacterias pueden causar infecciones extraintestinales que no son precedidas por diarrea^{11,15}.

Esta es la primera comunicación en Argentina de una bacteriemia humana causada por *Salmonella* subsp. I 4,[5],12:i:-, con la atipia de ser lactosa positiva y lisina decarboxilasa negativa, en una paciente con lupus eritematoso sistémico (LES). La paciente, una mujer de 60 años, residía en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Argentina) y carecía de antecedentes conocidos de viajes. Ingresó en el Servicio de Urgencias de un hospital de esa ciudad con el antecedente de fiebre diaria (38 °C) durante los 2 meses previos a la consulta, astenia y adinamia. También refirió artralgias, alopecia, úlceras orales y dificultad para deambular por debilidad en la pantorrilla derecha.

A su ingreso hospitalario, la paciente presentó los siguientes parámetros: tensión arterial 140/90 mmHg; frecuencia cardíaca 115 lpm; frecuencia respiratoria 20 rpm; saturación de O₂ 99%; temperatura 36,8 °C. Se encontraba lúcida, con pupilas simétricas reactivas, movilización pasiva y activa conservada de los 4 miembros y buena mecánica ventilatoria. Se detectó abdomen blando, sin visceromegalias palpables, con petequias palatales, piel descamativa y alopecia occipital.

Los análisis de sangre realizados al ingreso mostraron los siguientes resultados: hematocrito 26%, hemoglobina 8,1 g/dl, VCM 86,8 fl, recuento de glóbulos blancos 3.380/mm³ (81% neutrófilos, 10% linfocitos), plaquetas 100.000/mm³, eritrosedimentación 105 mm, glucemia 93 mg/dl, urea 29 mg/dl. Se decide su internación en el Servicio de Clínica Médica para su estudio y tratamiento.

Durante las primeras 12 h de internación, se constató en la paciente fiebre persistente y se procedió a tomar muestras para cultivo bacteriológico de esputo y urocultivo, que fueron negativos, y hemocultivos, con el aislamiento de *S. enterica* (excluida *S. Typhi*) en uno de 2 frascos. Dicho microorganismo se identificó por espectrometría de masas, sumada a la no aglutinación con el antisuero anti-Vi. Se realizó tratamiento con ceftriaxona 1 g/día durante 14 días, con cesación de los registros febriles.

Entre los estudios realizados, se destacan los siguientes hallazgos: disminución de factores del complemento (C3: 45 mg/dl y C4: 5 mg/dl), anticuerpo (Ac.) anti-ADN nativo positivo, Ac. anti-SM 116 U, Ac. anti-RNP 154 U, Ac. anti-Ro/SS-A 25 U, Ac. anti-La/SS 27 U, factor reumatoideo 12 U, Ac. anti-CCP 40 U y FAN 1/320 (con patrón homogéneo), tricitopenia (disminución de glóbulos blancos, rojos y plaquetas), TSH 31,6 µUI/ml, T₄L 0,8 ng/dl. El sedimento urinario mostró hematuria dismórfica.

Se realizó un ecocardiograma, que mostró derrame pericárdico; una biopsia renal, con glomerulonefritis lúpica tipo IV; y un electromiograma, que evidenció mononeuropatía. Se diagnosticó LES, hipotiroidismo y anomalía estructural de la vía biliar.

Para el estudio bacteriológico, se tomaron 2 muestras de sangre con las que se inocularon 2 frascos de hemocultivos, aeróbico y anaeróbico (método automatizado, BACTEC™, BD, Sparks, MD, EE. UU.). El frasco aeróbico se detectó positivo a las 12 h 47 min. En la coloración de Gram, se observaron bacilos negativos. En el subcultivo, a las 24 h de incubación en atmósfera aeróbica en el medio agar EMB de Levine, se obtuvo desarrollo de colonias fermentadoras de lactosa, con brillo metálico, y en el agar *Salmonella-Shigella* (SS), las colonias fueron rosadas.

El aislado fue identificado como *S. enterica* (score: 2,148) por el método de espectrometría de masas MALDI-TOF MS Biotyper® 3 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania). El sistema VITEK® 2 (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) identificó el aislado como grupo *Salmonella* (discriminación: 86%). Además, se realizó la identificación manual mediante las pruebas bioquímicas convencionales, cuyos resultados se describen a continuación. TSI: pico y fondo ácidos con gas, sin producción de SH₂; ONPG: positiva; IMViC: —+—+; producción de ureasa (técnica de Christensen): negativa; decarboxilación de aminoácidos (técnica de Möeller): negativa para lisina, positiva para ornitina y arginina; movilidad: positiva; producción de SH₂ en el medio SIM y LIA; PYR y utilización de malonato: negativos.

Se evaluó la utilización de hidratos de carbono en el medio base de Andrade; los resultados fueron positivos para lactosa, arabinosa, xilosa, galactosa y sorbitol, y negativos para ramnosa, rafinosa y trehalosa. La reacción serológica con el antisuero polivalente OMA (Bio Rad, Marnes-la-Coquette, Francia) para el antígeno somático fue positiva.

El aislamiento se derivó al Laboratorio Nacional de Referencia, Servicio de Enterobacterias, del Departamento de Bacteriología del INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, en donde fue identificado como *Salmonella* subesp. I 4,[5],12:i:- y confirmado por la técnica de PCR múltiple para serotipificación somática y flagelar, que dio por resultado la misma fórmula antigénica (según Herrera-León et al.^{9,10} y Echeita et al.⁷). Por otra parte, el aislado pertenece a *Salmonella* subesp. I o *enterica* con la atipia de ser lactosa positiva y no decarboxilar lisina.

En la [tabla 1](#) se muestran las principales pruebas que habitualmente se utilizan para diferenciar *Salmonella* no Typhi de las bacterias con las que, en este caso, podría confundirse.

Se realizó el antibiograma por el método automatizado Phoenix™ (BD, Sparks, MD, EE. UU.) utilizando el panel para bacilos gram negativos Nmic 406. La bacteria fue sensible a ampicilina + sulbactam (CIM = 8/4 µg/ml), piperacilina + tazobactam (CIM ≤ 4/4 µg/ml), cefazolina (CIM ≤ 2 µg/ml), ceftriaxona (CIM ≤ 1 µg/ml), imipenem (CIM ≤ 0,25 µg/ml), meropenem (CIM ≤ 0,5 µg/ml), ertapenem (CIM ≤ 0,25 µg/ml), ampicacina (CIM ≤ 8 µg/ml) y trimetoprima/sulfametoxazol (CIM ≤ 0,5/9,5 µg/ml). Asimismo, presentó sensibilidad intermedia a ciprofloxacina (CIM = 0,5 µg/ml) y fue resistente a ampicilina (CIM > 16 µg/ml) y gentamicina (CIM > 8 µg/ml); los resultados fueron interpretados siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute⁵.

Salmonella subesp. I 4,[5],12:i:-, por sus características genotípicas, bioquímicas y fenotípicas, se considera una variante monofásica de *Salmonella* Typhimurium. Cabe destacar que esta serovariedad y *Salmonella* ser. Enteritidis son las más frecuentemente aisladas en humanos en nuestro país^{1,6,13}.

Por lo general, en el laboratorio clínico, la identificación de *Salmonella* se realiza mediante pruebas bioquímicas seleccionadas a partir de la observación de colonias no fermentadoras de lactosa en el medio de agar EMB de Levine o en agar SS (o en ambos). La decarboxilación de lisina es, habitualmente, una prueba clave, puesto que permite excluir al complejo *Citrobacter freundii* y a *Proteus* spp. Las pruebas de ureasa y detección rápida de galactosidasa (utilizando, por ejemplo, ONPG), también son muy usadas en el diagnóstico rutinario para descartar *Proteus* spp. o *C. freundii*. Asimismo, se confirma la identificación a nivel de género mediante una reacción serológica que determina el antígeno somático "O" y, en el caso de sospecha de *Salmonella* ser. Typhi, además de las características fenotípicas diferenciales con el resto de las serovariedades de *Salmonella*, se prueba con el antisuero anti-Vi. La identificación a nivel de serovariedad queda limitada a un laboratorio de referencia.

Actualmente, los laboratorios de mediana complejidad cuentan con métodos automatizados para la identificación microbiana, como VITEK® (bioMérieux) o Phoenix™ (BD), entre otros. En algunos laboratorios, se realiza espectrometría de masas. En este caso, la espectrometría de masas identificó rápidamente este aislamiento como *Salmonella*, lo que demuestra la robustez de este método frente a las pruebas bioquímicas tradicionales, que por sí solas no hubieran permitido identificarlo correctamente. Dada la morfología cultural en el agar EMB de Levine y en el agar SS

Tabla 1 Comparación de las pruebas bioquímicas del aislado frente al complejo *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica* noTyphi, *S. Typhi* y *S. Paratyphi A*

Bacteria	Agar Levine (colonias)	TSI	IMViC	LIA	Urea	Lactosa	Sacarosa	L-arabinosa	AMPC
Aislamiento estudiado	Brillo metálico	Ác./Ác. gas + (SH ₂ -)	- + - +	- (trazas SH ₂)	-	+	-	+	-
Complejo <i>Citrobacter freundii</i>	Centro negro y/o brillo metálico	Ác./Ác. gas + / - (SH ₂ +)	- + - +	- (SH ₂ +)	+	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> no Typhi	Color del medio	Ác./Ác. gas + (SH ₂ +)	- + - +	+	-	-	-	+	-
<i>Salmonella</i> Typhi	Color del medio	Ác./Ác. gas - (SH ₂ + trazas)	- + - -	+	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Paratyphi A	Color del medio	Ác./Ác. gas + (SH ₂ -)	- + - -	- (SH ₂ -)	-	-	-	+	-

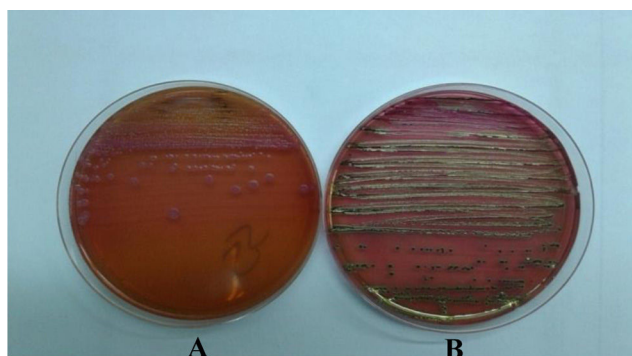


Figura 1 Aspecto de las colonias en (A) agar SS y en (B) agar EMB de Levine.



Figura 2 (A) TSI ácido/ácido con gas. (B) Citrato +. (C) LIA – con trazas de sulfuro ferroso.

(colonias fermentadoras de lactosa), sumado a la ausencia de lisina decarboxilasa y al resto de las características fenotípicas, el aislado hubiera sido identificado erróneamente como complejo *C. freundii* (figs. 1 y 2).

Los pacientes con LES suelen tener infecciones extraintestinales por *S. enterica* (no Typhi) por defecto en la inmunidad celular, hecho que debería tenerse en cuenta a la hora de interpretar la identificación fenotípica convencional de una enterobacteria aislada de hemocultivo en estos pacientes^{11,15}.

A mediados de la década de los noventa, *S. enterica* serovar 4,[5],12:i:- emergió como patógeno humano en Europa y luego fue incrementándose su incidencia, asociada al consumo de productos porcinos, a diferencia de las otras serovariedades de *S. enterica*, que se encuentran con más frecuencia en aves de corral y huevos^{3,12,15}. Esta serovariedad puede causar enterocolitis y septicemia en porcinos⁸.

En los años subsiguientes, se documentaron brotes por esta serovariedad en humanos, con aislados recuperados de materia fecal o sangre en España, Francia, Tailandia, Taiwán, EE. UU. y Brasil; recientemente, también se describió un aislamiento con la atipia de fermentar lactosa (operón lac +)^{2,4,6,12-14}.

Dada la atipia en la identificación de *Salmonella*, es de interés realizar la secuenciación del genoma completo (plataforma Illumina) para la caracterización genotípica y el estudio de la relación filogenética con los aislamientos circulantes en Argentina de *Salmonella* monofásica 4,[5],12:i:- bajo vigilancia en el marco de la Red Nacional (Red Nacional de Diarreas) y Regional (Red PulseNet América Latina y El Caribe).

Se advierte sobre la circulación de *S. enterica* serovar 4,[5],12:i:- en Argentina, y, en particular, de esta cepa con atipia en la fermentación de lactosa (lactosa +) y la no decarboxilación de la lisina, cuya interpretación puede conducir a una identificación equivocada.

Se destaca la utilidad de los métodos automatizados y la espectrometría de masas (MALDI-TOF) para la identificación segura de estos aislados, lo que posibilita un diagnóstico y tratamiento adecuado de la enfermedad infecciosa. Asimismo, cabe notar la importancia de asociar el proceso de identificación con la enfermedad de base del paciente y el contexto epidemiológico, pues si en el caso de esta paciente solo se hubiera podido contar con los resultados de las pruebas fenotípicas convencionales, esa hubiera sido la única llamada de atención para sospechar de una infección por *Salmonella*.

Financiación

El presente trabajo ha sido financiado con fondos del Proyecto UBACYT 2018 Modalidad I: código 20020170100109BA.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- ANMAT. Salmonelosis. Enfermedades transmitidas por alimentos. Ficha técnica N° 9. Buenos Aires; 2023. [consultado 28 Oct 2024]. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/salmonelosis_final.2023.pdf
- Arnedo-Pena A, Sabater-Vidal S, Herrera-León S, Bellido-Blasco JB, Silvestre-Silvestre E, Meseguer-Ferrer N, Yague-Muñoz A, Gil-Fortuño M, Romeu-García A, Moreno-Muñoz R. An outbreak of monophasic and biphasic *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Derby associated with the consumption of dried pork sausage in Castellón (Spain). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34:544–50.
- Arruda BL, Burrough ER, Schwartz KJ. *Salmonella enterica* 14,[5],12:i:- associated with lesions typical of swine enteric *Salmonellosis*. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:1377–9.
- Bone A, Noell H, Le Hello S, Pihier N, Danan C, Raguenaud ME, Salah S, Bellali H, Vaillant V, Weill FX, Jourdan-da Silva N. Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage, March-May 2010. *Euro Surveill*. 2010;15:19592.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI; 2019.
- De Frutos M, López-Urrutia L, Berbel C, Allue M, Herrera S, Azcona JM, Beristain X, Aznar E, Albert M, Ruiz C, Eiros JM. Brote de *Salmonella* Typhimurium monofásica asociada al consumo de carne asada de cerdo. *Rev Esp Quimioter*. 2018;31:156–9.

7. Echeita MA, Herrera S, Garaizar J, Usera MA. Multiplex PCR-based detection and identification of the most common *Salmonella* second-phase flagellar antigens. *Res Microbiol*. 2002;153:107–13.
8. Hauser E, Tietze E, Helmuth R, Junker E, Blank K, Prager R, Rabsch W, Appel B, Fruth A, Malorny B. Pork contaminated with *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:-, an emerging health risk for humans. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76:4601–10.
9. Herrera-León S, McQuiston JR, Usera MA, Fields PI, Garaizar J, Echeita MA. Multiplex PCR for distinguishing the most common phase-1 flagellar antigens of *Salmonella* spp. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2581–6.
10. Herrera-León S, Ramiro R, Arroyo M, Díez R, Usera MA, Echeita MA. Blind comparison of traditional serotyping with three multiplex PCRs for the identification of *Salmonella* serotypes. *Res Microbiol*. 2007;158:122–7.
11. Huang CF, Chen PL, Liu MF, Lee CC, Lee NY, Chang CM, Lee HC, Wu CJ, Ko WC. Nontyphoidal *Salmonella* bacteremia in patients with connective tissue diseases. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012;45:350–5.
12. Mossong J, Marques P, Ragimbeau C, Huberty-Krau P, Losch S, Meyer G, Moris G, Strottner C, Rabsch W, Schneider F. Outbreaks of monophasic *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Luxembourg, 2006. *Euro Surveill*. 2007;12:E11–2.
13. Payen M, Pardos de la Gándara M, Cointe A, Massiot A, Bidet P, Weill FX, Bonacorsi S. Diagnostic challenge of gastrointestinal infection due to lactose-fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4,5:l:. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;98, 115105.
14. Raguenaud ME, Le Hello S, Salah S, Weill FX, Brisabois A, Delmas G, Germonneau P. Epidemiological and microbiological investigation of a large outbreak of monophasic *Salmonella* Typhimurium 4,[5],12:i:- in schools associated with imported beef in Poitiers, France, October 2010. *Euro Surveill*. 2012;17, 20289.
15. Rodríguez CH, de Mier C, Bogdanowicz E, Caffer MI, García S, Lasala MB, Vay C, Famiglietti A. Salmonellosis extraintestinal: clínica, epidemiología y resistencia antimicrobiana. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2007;41:379–83.