

Salmonella spp. Serotipos aislados en el Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba durante un período de 8 años (1993-2000)

Fernando de Carlos Rodríguez, Francisco Solís Cuesta, Francisco Navarro, José Muñoz, Rocío Tejero, Ana Ibarra González, María José Linares Sicilia y Manuel Casal

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

FUNDAMENTO. *Salmonella* spp., como productor de gastroenteritis y otros cuadros clínicos, sigue constituyendo un importante problema para la salud pública mundial. Por ello, el conocimiento de su epidemiología a nivel general y local mediante la serotipificación se considera uno de los principales pilares para su control sanitario.

MATERIAL Y MÉTODO. Se ha estudiado un total de 15.181 muestras fecales y el resto de las recibidas en nuestro servicio procedentes de otras localizaciones, pertenecientes tanto a pacientes ingresados como del área sanitaria que al mismo corresponden. El aislamiento de *Salmonella* se ha realizado a partir de medios convencionales agar MacConkey, *Salmonella-Shigella*, selenito F. Su identificación se ha llevado a cabo mediante paneles en métodos automatizados Microscan y Wider I. La serotipificación se ha efectuado con sueros polivalentes y monoespecíficos (Difco) y confirmación por el Laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella* de España (LNRSSE).

RESULTADOS. En los coprocultivos y hemocultivos se detecta el 96,4% de *Salmonella* spp. y se destaca la presencia en líquido cefalorraquídeo, esputo, biopsia rectal, exudado vaginal y otras localizaciones. En un total de 1.290 pacientes se aislaron 37 serotipos diferentes, siendo Enteritidis y Typhimurium los más frecuentes. Se destaca la presencia del serotipo Virchow en los años 1994-1999, aislado tanto en heces como en el líquido encefalorraquídeo, así como la presencia de serotipos poco habituales, como Blockley, London, Give y Mikawasina, entre otros.

CONCLUSIONES. La cada vez más frecuente aparición de nuevos serotipos, así como la necesidad de una más amplia tipificación, como el fagotipo, para obtener una completa información epidemiológica, hace necesaria una mayor capacidad de tipificación en nuestros laboratorios, así como la posibilidad de contar con centros de referencia como el LNRSSE.

Palabras clave: *Salmonella* spp. Prevalencia. Serotipos. Fagotipos. Córdoba.

Correspondencia: Dr. F. de Carlos Rodríguez.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía.
Avda. Menéndez Pidal, s/n. 14004 Córdoba.

Manuscrito recibido el 21-05-2001; aceptado el 2-10-2001.

Salmonella spp. isolation serotypes Hospital Universitario Reina Sofía Córdoba in the years 1993-2000

BACKGROUND. As a producer of gastro-enteritis and other symptoms, *Salmonella* spp. Remains an important problem for world public health. Epidemiological knowledge at both general and local level by means of serotyping is considered one of the fundamental aspects for its control.
MATERIAL AND METHOD. We studied 15.181 stool samples, and the others specimens. Isolation using the usual routine media, agar MacConkey, *Salmonella-Shigella*, selenito F. Identification using the automated Microscan and wider I method, serotyping with multi-purpose and monospecific serums (Difco), and confirmation of *Salmonella* and *Shigella* by the National Reference Laboratory, from the LNRSSE.

RESULTS. Although 96.6% of *Salmonella* spp. Is detected in cultures of faeces and blood, it is also noted in LCR, sputum, rectal biopsy and vaginal secretions among other sites. In total of 1290 patients, 37 different serotypes were isolated, the most frequent of which were Enteritidis and Typhimurium. The presence of Virchow, isolated in both faeces and LCR, was notable in the years 94-99, as was as the presence of less typical serotypes, such as Blockley, London, Give and Mikawasina, among others.

Key words: *Salmonella* spp. Prevalence. Serotype. Phagotypes. Córdoba.

Introducción

Las gastroenterocolitis infecciosas, y entre ellas la producida por *Salmonella*, siguen siendo un importante problema de salud pública mundial^{1,2}. Su incidencia real puede considerarse unas 10 veces el número de casos declarados. En la última década, la gastroenterocolitis por *Salmonella* se ha considerado poseedora de las características de una verdadera pandemia. Según los datos publicados en nuestro país, aparecen numerosos brotes de elevada morbimortalidad. En nuestro medio puede considerarse que *Salmonella* es responsable de casi la mitad de los casos de diarrea de origen bacteriano, aunque esta cifra varía según las áreas geográficas. Desde 1982, el serotipo más frecuentemente aislado en España es Enteritidis, seguido de Typhimurium, que mantiene desde hace años una tendencia ascendente³⁻⁷.

TABLA 1. *Salmonella* spp. Frecuencia de aislamientos por origen de muestras clínicas

Muestra	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Total	Porcentaje
Coprocultivo	122	195	136	138	217	155	131	184	1.274	87,4
Hemocultivo	20	21	25	22	23	9	4	12	136	9,3
Exudado purulento	2	1			4	4			11	0,8
LCR		1			1				2	0,1
Esputo			1	4		2	2	1	10	0,7
Biopsia rectal	2	3							5	0,3
Exudado vaginal				1	2				3	0,2
Meconio		1		1					2	0,1
Líquido ascítico			1	1					2	0,1
Biopsia colon			1						1	0,07
Líquido articular					1	1	1		3	0,2
Orina						3	3	2	8	0,5
Líquido pleural							1	1	2	0,1
Total	146	223	163	167	247	176	142	201	1.463	100

Otras formas clínicas, como la artritis, pueden presentarse con una incidencia inferior al 4% y fundamentalmente en los serotipos Typhimurium, Enteritidis y Heidelberg. En África y en Américas han encontrado con relativa asiduidad meningitis neonatales, así como otras localizaciones poco frecuentes, pero no en nuestro medio.

El conocimiento de la epidemiología de la salmonelosis es uno de los pilares para su control sanitario, siendo el marcador epidemiológico de elección la serotipificación, mediante la que se han descrito más de 2.300 serotipos, aunque en las muestras de origen humano sólo un reducido número de serotipos son los más frecuentes. La correcta tipificación hace posible detectar las fuentes de infección y define la eficacia en su caso de las medidas sanitarias adoptadas, por lo que el objetivo de este trabajo es conocer la frecuencia de *Salmonella* aisladas, los serotipos presentes en nuestro medio y la evolución en la frecuencia de los mismos durante los años 1993-2000.

Material y método

Desde enero de 1993 a diciembre de 2000, en el Hospital Reina Sofía se recibieron 15.181 muestras fecales para el estudio de microorganismos enteropatógenos, así como el resto de las muestras recibidas de otras localizaciones en las que se detectó la presencia de *Salmonella* spp. procedentes de enfermos ingresados y del área sanitaria que al mismo corresponde de la ciudad de Córdoba y su provincia.

Su aislamiento se realizó por los métodos habituales de rutina⁸ en búsqueda de bacterias tanto invasivas (*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli* enteroinvasivo) como toxigénicas (*Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* enterotoxigénico, etc.).

Las heces se cultivaron en los medios convencionales para el aislamiento de los agentes etiológicos indicados: agar MacConkey, agar *Salmonella-Shigella*, medio de selenito F, Sal manitol, Sabouraud, *Campylobacter* agar Skirrow y, en caso de solicitud explícita por parte del clínico o de rutina en los meses de mayo a noviembre, en todas las heces líquidas se utilizó agar tiosulfato-citrato-sales biliares (TCBS) y agua de peptona alcalina. A lo largo del estudio se han utilizado placas preparadas, suministradas por diversos fabricantes. La identificación bioquímica se realizó con el sistema automatizado Microscan y Wider I, empleando paneles Combo 6I y MIC/ID gramnegativos, respectivamente, junto con métodos manuales complementarios.

La serotipificación de las cepas de *Salmonella* aisladas se realizó por aglutinación en porta con sueros polivalentes y monoespecíficos para antígenos somáticos y flagelares (Difco), siendo todas las cepas posteriormente enviadas al Laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella* de España (LNRSSE) del Centro Nacional de Microbiología, del Instituto Carlos III, para su confirmación o tipificación en los casos en los que no logramos la misma con los sueros que habitualmente poseemos⁸⁻¹⁰.

Resultados

En la tabla 1 se recogen los resultados globales de los 8 años estudiados, en los que se obtuvieron 1.463 cepas, que procedían de coprocultivos en un 87,4%, de hemocultivos en un 9,3% y menos del 1% se aislaron en el líquido cefalorraquídeo (LCR), esputo, biopsia rectal y de colon, exudado vaginal, meconio, exudado purulento, líquido ascítico, líquido articular, orina y líquido pleural.

El número de aislados de *Salmonella* ha oscilado entre 150 a 160 anuales, excepto en los años 1994, 1997 y 2000, en los que fue superior a 200 (tabla 1).

En la figura 1 se recoge el número de pacientes por año en los que se detectó *Salmonella*.

El número total de serotipos detectados durante los 8 años fue de 37, siendo los más frecuentes Enteritidis (49,8%), Typhimurium (34,1%), Hadar (3,5%), Virchow (1,5%) y Brandenburg (1,3%). No superaron el 1% el resto de los serotipos aislados (tabla 2).

El serotipo más frecuente ha sido Enteritidis (tabla 3), aunque en su distribución anual observamos que casi se iguala en número de pacientes a Typhimurium en 1994 y 1998. Virchow se aisló en 7 pacientes en 1994, en cuatro en 1995, en cinco en 1996, y en un paciente en 1997, 1998 y 1999. Es de destacar que en uno de los pacientes de 1994 fue aislado en el LCR, además de en las heces. El serotipo Hadar ha ido incrementándose en número de pacientes a lo largo de estos años. El serotipo Brandenburg presenta un pico de 6 pacientes en 1995 y cinco en 1998, para descender en los años posteriores. Los serotipos Bredeney, Blockley y Ohio aparecen con mayor frecuencia a partir de 1995. El resto de serotipos aparecen dispersos a lo largo de los 8 años estudiados (tabla 3).

En nuestro caso, de los 13 pacientes con fiebre tifoidea, de las cepas aisladas pertenecientes al serotipo Typhi,

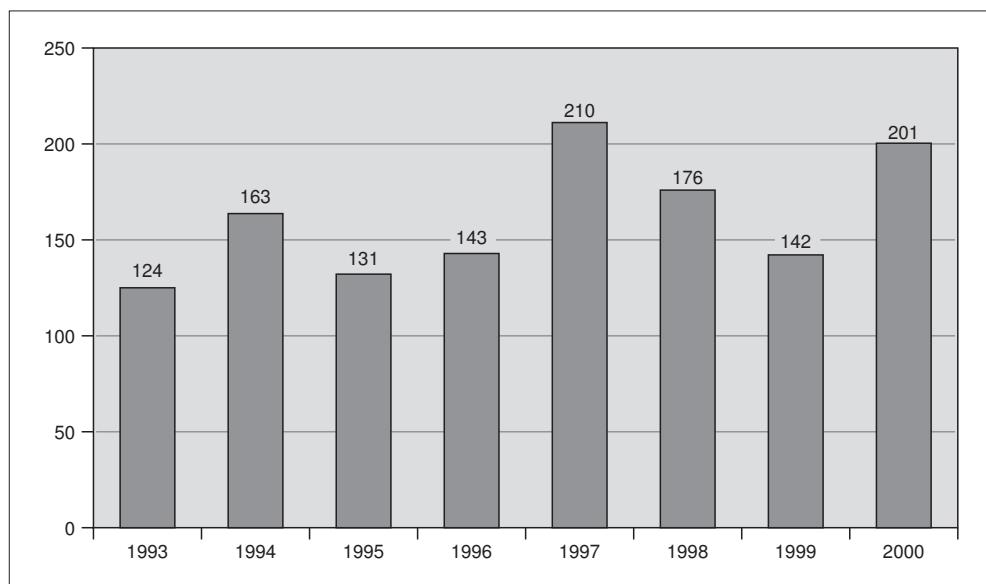


Figura 1. *Salmonella enterica*. Número de pacientes en el Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba) en el período 1993-2000.

TABLA 2. *Salmonella* spp. Serotipos más frecuentemente aislados. Período 1993-2000

Serotipo	Nº de cepas	Porcentaje
Enteritidis	637	49,8
Typhimurium	436	34,1
Hadar	45	3,5
Virchow	19	1,5
Brandenburg	16	1,3
Typhi	13	1,1
Heidelberg	12	1,0
Goldcoast	10	0,8
Blockley	7	0,6
Ohio	7	0,6
Bredeney	6	0,5
4,5,12:i:-	6	0,5
Montevideo	5	0,4
Paratyphi A	5	0,4
Infantis	4	0,3
Mikawasima	4	0,3
Panama	4	0,3
London	3	0,2
Agona	2	0,1
Anatum	2	0,1
Bovismorificans	2	0,1
Indiana	2	0,1
Livingstone	2	0,1
Muenchen	2	0,1
Newport	2	0,1
Oranienburg	2	0,1
4,12:-:-	2	0,1
Cerro	1	0,08
Give	1	0,08
Hull	1	0,08
Mbandaka	1	0,08
Tennessee	1	0,08
Thompson	1	0,08
4,5,12:i:-	1	0,08
4,12:-:1,2	1	0,08
4,12:b- (ii)	1	0,08
47:i:z53 (iii,b)	1	0,08

11 de ellas presentaron el biotipo TTR+, Xy+ y 2 cepas fueron TTR+, XY-; fagotipos A, A degradado y E1a, siendo todas las cepas resistentes a eritromicina, 11 con valores intermedios a la estreptomicina, dos con valores

intermedios a sulfametoxazol y todas sensibles a ampicilina, carbenicilina, cloranfenicol, gentamicina, kanamicina, tetraciclina, trimetoprim y cefoperazona.

El serotipo Typhimurium presentó como fagotipos más frecuentes el 104 (31,2%), que ha sido en 1999 el más frecuente en España, y el 193 (19,3%), que ha sido en 1999 el quinto en frecuencia en España¹¹, seguidos de los fagotipos 120 y 92, con escasa frecuencia, los fagotipos 285, 194, 23, 53, 195, 39 y 12.

El serotipo Enteritidis presentó los fagotipos 6a, 1 y 4 como más frecuentes, y en escasa incidencia los 21, 8, 7 y 34. Por tanto, el fagotipo más frecuente en nuestro medio corresponde al tercero en frecuencia en España en 1999. El serotipo Hadar presentó los fagotipos 1, 22 y 17, mientras que en España, en 1999, ha sido el FT2, y el serotipo Virchow ha presentado los fagotipos 16 y 8.

Discusión

Los principales microorganismos asociados a enteritis, ya sea por la producción de enterotoxinas, adherencia/invasión de la mucosa o producción de citotoxinas, son bacterianos y cerca de un tercio de etiología viral, variando considerablemente según el área geográfica, la edad, etc.

Salmonella spp., capaz de inducir una respuesta inflamatoria fundamentalmente en la lámina propia del íleon terminal, se ha comportado como el agente más frecuente de diarrea bacteriana en nuestro medio, aunque su prevalencia relativa ha sido discretamente disminuida por el aumento de aislados de *Campylobacter*, aun teniendo en cuenta que el número absoluto de pacientes ha aumentado en los últimos años, siendo éstas las dos causas más frecuentes de diarrea infecciosa, lo que coincide con la mayoría de los estudios sobre enteritis realizados en nuestro entorno¹².

La incidencia descrita en otros trabajos se considera más elevada en los meses de verano; sin embargo, en

TABLA 3. Serotipos de *Salmonella* aislados. Distribución anual agrupada en número de pacientes

Serotipo	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	Total
Enteritidis	65	77	59	82	99	75	71	109	637
Typhimurium	45	65	44	46	89	65	32	50	436
Virchow		7	4	5	1	1	1		19
Hadar	2	3	2	4	4	6	9	15	45
Typhi	5	5	1		2				13
Brandenburg		1	6	2		5	2		16
Heidelberg	1				5	1	5	1	12
Bredeney	1		1		3	1			6
Blockley			2	2	1	2			7
Ohio	1		2	1		5		1	7
Goldcoast	1	1	2			1			10
Otras	3	4	8	1	6	13	22	25	82
Total	124	163	131	143	210	176	142	201	1.290

nuestro caso, aunque algo superior en verano, se ha mantenido estable a lo largo de todo el año.

No ha habido diferencias significativas en cuanto al sexo, pero sí respecto a la edad, en la que también hemos encontrado mayor número de personas adultas (mayores de 14 años) que de niños (menores de 14 años) y, dentro de éstos, ha destacado como grupo más numeroso el de menores de 5 años, que ha sido significativamente destacado en otros trabajos.

El predominio de *Salmonella* ha sido relevante en heces y sangre, así como en exudados varios y esputos en cuanto al número de casos, y en el LCR por el serotipo Virchow en cuanto a la gravedad.

No se ha observado ninguna relación entre el serotipo y el origen.

En nuestro país, la presencia de los diversos serotipos de *Salmonella* ha ido evolucionando a lo largo del tiempo; así, en 1987, el LNRSSE¹³ demuestra, con un 68%, un absoluto predominio del serotipo Enteritidis, seguido de Typhimurium con un 9,4%, Virchow con el 5% y Ohio con el 2%. Esta distribución ha ido cambiando a lo largo de estos años, con una tendencia clara de ascenso de Typhimurium que, según diferentes zonas, llega en estos momentos a alcanzar entre el 25-30%^{6,11,14}. En nuestro caso y en cepas aisladas en humanos es de un 37,5%, algo superior a la media nacional, pero, así como en nuestro medio Enteritidis ha permanecido en estos años de forma más o menos estable, Typhimurium se ha mantenido en cifras inferiores, aunque aparecen picos esporádicos que incluso llegan a igualar a Enteritidis, como sucedió en 1994, 1997 y 1998. Este aumento puntual en ciertos períodos ha ido seguido de un nuevo descenso dentro de su tendencia ascendente en los últimos años. En países como los EE.UU. predominan los serotipos Typhimurium, seguidos de Heidelberg y Enteritidis.

El serotipo Hadar, con cada vez mayor presencia en nuestro país, ha sido en nuestro caso el tercero en frecuencia, superando al serotipo Virchow.

Junto a estos hechos es de destacar que el amplio número de serotipos aislados y la variabilidad de fagotipos revelan el interés de una correcta tipificación y la necesidad de centros de referencia como el LNRSSE para obtener una completa información epidemiológica.

Bibliografía

- Rowe B. *Salmonella enteritidis*: the problem nationally and internationally. Pamplona, XII Congreso de la Sociedad Española de Microbiología 1989; 1:301.
- Chalker R, Blaser M. A Review of human Salmonellosis III: magnitude of *Salmonella* infection in the United States. Rev Infect Dis 1988;10:111-24.
- Echeita MA, Usera MA. Estudio de las cepas de *Salmonella* recibidas en el Laboratorio de Referencia del Servicio de Bacteriología del CNMVS del Instituto de Salud Carlos III durante el año 1992. Bol Epidemiol Microbiol 1994;1:145-53.
- Usera MA, Cano R, Echeita A. Análisis de los serotipos de *Salmonella* spp. aislados en España en el período 1988-1992. Enferm Infect Microbiol Clin 1995;13:138-45.
- González-Hevia MA, Álvarez JA, Mendoza MC. *Salmonella enterica* en el área sanitaria de Avilés (Asturias). Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos. Enferm Infect Microbiol Clin 1990;8:144-7.
- Echeita M, Diez R, Usera A. Distribución de serotipos de *Salmonella* spp. aislados en España durante un período de 4 años (1993-1996). Enferm Infect Microbiol Clin 1999;17:9-14.
- Dorronoro I, Sarasqueta R, Perfecto B, González AI. Epidemiología de la gastroenteritis por *Salmonella* (1983-1994). Enferm Infect Microbiol Clin 1996;14:604-7.
- Bradley S, Tilton R, Weissfeld A. Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. Cumitech 12. Washington: American Society for Microbiology, 1980.
- Mattar S, Centella A, Daza C, García J. Valoración de tres nuevos medios de cultivo agar novobiocina-verde brillante glicerol-lactosa, agar lisina-hierro modificado y agar Rambach para aislamiento de *E. coli* enteropatógeno, *Salmonella* sp y *shigella* en la gastroenteritis aguda. Enferm Infect Microbiol Clin 1994;12:484-9.
- Surveillance of *Salmonella*: Achievements and future directions. European Communicable Disease Bulletin 1999;4:51-62.
- Usera MA, Aladuena A, Díez R, de la Fuente M, Gutiérrez R, Cerdán P, et al. Análisis de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas de muestras clínicas de origen humano en España en el año 1999. Boletín Epidemiológico. Madrid: Instituto de Salud Carlos III, 2000;8:45-48.
- Prats G, Lovet T, Muñoz C, Solé R, Mirelis B, Izquierdo C, et al. Etiología de la enteritis en un hospital general universitario en Barcelona (1992-1995). Enferm Infect Microbiol Clin 1997;15:349-56.
- Boletín Microbiológico semanal. Información procedente del CNMVIS. Madrid: 1987;29-30.
- González-Hevia MA, Cruz Martín M, Lobato MJ, Gutiérrez F, Solano P, Álvarez-Riesgo JA. *Salmonella* y salmonelosis en el Principado de Asturias durante el período de 7 años (1990-1996). Enferm Infect Microbiol Clin 1999;17:166-70.