

# Brote de gastroenteritis en una guardería causado por una cepa de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium portadora del plásmido híbrido de resistencia-virulencia pUO-StVR2

Margarita Bances<sup>a</sup>, Ana Herrero<sup>b</sup>, Yolanda González<sup>c</sup>, María Rosario Rodicio<sup>b</sup> y María Ángeles González-Hevia<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Salud Pública. Consejería de Salud y Servicios Sanitarios. <sup>b</sup>Departamento de Biología Funcional. Área de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo. <sup>c</sup>Dirección General de Salud Pública y Planificación. Consejería de Salud y Servicios Sanitarios. Oviedo. España.

**OBJETIVO.** El estudio epidemiológico y microbiológico de un brote de salmonelosis ocurrido en 2004, que afectó a 22 niños de una guardería en Oviedo.

**MÉTODOS.** Se determinaron las tasas de ataque y curvas epidémicas y se aplicaron técnicas de tipificación bacteriana.

**RESULTADOS.** El brote pudo atribuirse a una cepa de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium perteneciente a un grupo emergente que alberga un plásmido híbrido de virulencia-resistencia de 125-130 kb, denominado pUO-StVR2. Las tasas de ataque para los casos confirmados frente a los posibles fue 27,2% frente a 23,5% para los niños y 0 frente a 26,5% para el personal del centro. La fuente de infección no pudo ser identificada, aunque según la evolución temporal de los casos se podría considerar que el modo de transmisión fue el contacto cuidadoras-niños, facilitando la diseminación fecal-oral. Todos menos uno de los 27 aislamientos analizados (de 22 pacientes) presentaban características idénticas: perfil-R, perfil de plásmidos, RAPD-tipo, PFGE-tipo y eran no fagotipificables (la excepción fue un aislamiento con fagotipo DT104b). pUO-StVR2 es un derivado del plásmido de virulencia, pSLT, de la cepa tipo LT2 que ha ganado una región-R compleja (ACSSuT/*bla*<sub>OXA</sub>-*catA1-strA/B-aadA1-sul1-sul2-tet(B)*) en la que los genes *bla*<sub>OXA</sub>-*aadA1* forman parte de la región variable de un integrón de clase 1. **CONCLUSIÓN.** Este brote constituye un ejemplo de cómo una cepa de *S. enterica* serovar Typhimurium, perteneciente a un tipo probablemente ya endémico en la península Ibérica, puede transmitirse a la comunidad y afectar a un colectivo susceptible.

**Palabras clave:** Salmonelosis. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Brote en guardería. Tipo emergente. Tipo endémico.

Outbreak of gastroenteritis in a nursery school caused by a strain of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium carrying the hybrid virulence-resistance plasmid pUO-StVR2

**OBJECTIVE.** Epidemiological and microbiological study of a salmonellosis outbreak, affecting 22 children in a nursery school in Oviedo (Spain).

**METHODS.** Attack rates and epidemic curves were determined, and bacterial typing methods were applied.

**RESULTS.** The outbreak was attributed to a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain, belonging to an emergent type characterized by the presence of a hybrid virulence-resistance plasmid of 125-130 kb, named pUO-StVR2. The attack rate of confirmed cases vs. possible cases was 27.2% vs. 23.5% for the children and 0 vs. 26.5% for the staff of the affected center. The source of the infection could not be identified. Nevertheless, according to the evolution of the cases over time, the transmission route was likely to be personal contact between the staff and children, which facilitates fecal-oral dissemination. All but one of the 27 isolates analyzed (from 22 patients) showed identical features: R-profile, plasmid-profile, RAPD-type, PFGE-type; all were non-phage-typeable, with the exception of a DT104b isolate. pUO-StVR2 is probably a derivative of the virulence plasmid pSLT from the LT2 type strain that acquired an R-region complex (ACSSuT/*bla*<sub>OXA</sub>-*catA1-strA/B-aadA1-sul1-sul2-tet(B)*), in which the *bla*<sub>OXA</sub>-*aadA1* genes are part of the variable region of a class 1 integron. **CONCLUSION.** This outbreak is an example of how a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain belonging to a type that is probably endemic in Spain can be transferred to the community and affect a susceptible population.

**Key words:** Salmonellosis. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Nursery outbreak. Emergent type. Endemic type.

## Introducción

La gastroenteritis causada por *Salmonella enterica* (salmonelosis) es una de las enfermedades más comunes transmitidas por alimentos, y frecuentemente causa bro-

Correspondencia: Dra. M.A. González-Hevia. Laboratorio de Salud Pública. Consejería de Salud y Servicios Sanitarios. Camino de Rubin, s/n. 33011 Oviedo. España. Correo electrónico: mariangh@princast.es

Manuscrito recibido el 20-7-2006; aceptado el 15-11-2006.

tes de diferente magnitud. En las últimas décadas representa un verdadero problema en los países industrializados, debido principalmente a la globalización, el comercio y el cambio mundial en los hábitos alimenticios. Según ENTER NET (<http://www.hpa.org.uk/hpa/inter/enter-net/04q1summ.pdf>) en el primer cuatrimestre de 2004 (datos de 20 países), el serovar más frecuente fue Enteritidis con 3.954 aislamientos (38,4%) seguido de Typhimurium con 2.698 (26,5%). En España, en el mismo año se detectaron 3.815 Enteritidis (51,5%) y 811 Typhimurium (10,96%) (<http://cne.isciii.es/htdocs/bes/bes2005.htm>). Actualmente, la investigación de los brotes de salmonelosis requiere la combinación de los métodos de la epidemiología tradicional junto con técnicas moleculares, dirigidas a la tipificación de las cepas implicadas. Estas últimas técnicas han permitido conocer, en algunos casos, la fuente de infección y el vehículo de transmisión, así como las bases genéticas de la resistencia (R) a antimicrobianos de dichas cepas.

Durante el trienio 2002-2004 en el Laboratorio de Salud Pública del Principado de Asturias (LSPPA) se recibieron 2.647 aislamientos de *Salmonella* y se estudiaron 54 brotes (22 comunitarios y 32 familiares), de los cuales cinco correspondían *S. enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*). Este serovar tiene un amplio reservorio animal, y se subdivide según diferencias en los patrones de resistencia a antimicrobianos (perfil-R), fagotipos (DTs) y diversos métodos de tipificación que analizan polimorfismos en el ADN genómico. Muchas cepas de *S. typhimurium* son multiresistentes (MR) y resulta de especial interés un tipo pandémico conocido como DT104 pentarresistente (ampicilina, cloranfenicol, estreptomycin, sulfadiazina y tetraciclina, perfil ACSSuT) en el que los determinantes-R forman parte de una isla genómica de 43 kb, denominada SGI1, que porta un integrón de clase 1 complejo con dos sitios *attI*<sup>1,2</sup>. En los últimos años, además, han emergido otros clones que han demostrado su habilidad para diseminarse ampliamente, y para producir cambios relevantes en la prevalencia de *S. typhimurium*-MR en una región determinada<sup>1,3</sup>. En 2002<sup>4</sup>, se comunica la presencia en el Principado de Asturias de un tipo-MR que incluye aislamientos de diferentes fagotipos que comparten el fenotipo-R de DT104-pentarresistente, pero asociado a un diferente genotipo-R (*bla*<sub>OXA-30</sub>-*catA1*-*strA*/*B*-*aadA1a*-*sul1*-*sul2*-*tet[B]*). Los genes *bla*<sub>OXA</sub>, *aadA1a*, *sulI*, *qacEΔI* (resistencia a ampicilina, estreptomycin-espectinomycin, sulfadiazina y antisépticos de amonio cuaternario, respectivamente) están localizados en un integrón de clase 1 (región variable de 2000 pb, con los genes *bla*<sub>OXA</sub>-*aadA1a*, denominado InH), que junto con el gen *merA* (mercurio-R) ha sido asociado con el transposon Tn2603<sup>4</sup>. Los genes-R están localizados en un plásmido conjugativo de 125-130 kb (datos no publicados), inicialmente estimado en 140 kb<sup>4,6</sup>, que también porta genes de virulencia (V), y que se denominó pUO-*StVR2* (plásmido de la Universidad de Oviedo-*S. typhimurium* virulencia-resistencia). Este plásmido podría haberse originado a partir de pSLT (plásmido-V del serotipo *typhimurium*) dado que contiene la región *spv* y los genes *rck*, *traT*, *oriT*, *samA*, *traX*, *repA* (RepFIIA) y *parA*/*B*, aunque carece del operón *pef* y del gen *rsk*<sup>4,6,7</sup> (datos no publicados). Se debe señalar que durante el período 2000-2002, en el Principado de Asturias el segundo tipo más frecuente de *S. typhimurium*-MR fue el portador del

plásmido pUO-*StVR2*, precedido solamente por el tipo pandémico MR DT104 (50% frente a 27%)<sup>6</sup>.

El objetivo de este trabajo consistió en el estudio epidemiológico y microbiológico de un brote de salmonelosis ocurrido a principios de 2004, que afectó a 22 niños de una guardería en Oviedo, en el que se identificó como agente causal al tipo emergente de *S. typhimurium*-MR que alberga pUO-*StVR2*.

## Métodos

### Características del Centro

El brote se registró en una guardería o Escuela de Enseñanza Infantil (en adelante Centro) que se ocupa de niños de 3 meses a 3 años de edad. En el inicio del brote había inscritos en el Centro un total de 81 niños diferenciados en 8 grupos, cinco en el turno de jornada completa y tres en el turno de media jornada. El personal está compuesto por directora, cocinera, conserje, 10 educadoras y 2 estudiantes en prácticas. El Centro tiene distintas dependencias (administración, aulas, comedor, cocina, despensa, etc.), distribuidas en 3 pisos y los niños están divididos en 3 grupos de edad en aulas independientes. En el centro hay establecidas dos jornadas: entre 7:30-16:00 h y entre 15:00-18:00 h. Todas las aulas disponen de un lugar para cambio de pañales, separado pero no aislado del aula, que incluye además servicios y lavabos en los niños mayores, y baño y lavabo para los bebés. Los niños deben llevar al Centro su propio material de aseo.

### Análisis de los datos epidemiológicos

Caso confirmado: paciente con aislamiento de *S. typhimurium* en heces. Caso posible: enfermo con síntomas de gastroenteritis sin resultados negativos o positivos en los primeros 10 días del comienzo de los síntomas. Caso descartado: paciente que presenta síntomas con coprocultivo realizado en los 10 días siguientes al comienzo de los síntomas con resultado de flora normal u otro germen diferente a *S. typhimurium* capaz de causar gastroenteritis. Las tasas de ataque y las curvas epidémicas se realizaron siguiendo las indicaciones de Martínez Navarro et al<sup>8</sup>.

### Microorganismos

En el LSPPA entre el 5 de febrero y el 1 de marzo de 2004 se recibieron 27 aislamientos de *Salmonella* (procedentes de heces diarreicas) asociados a 22 episodios del brote, aislados en diferentes hospitales y centros de salud de Oviedo y remitidos al LSPPA a través del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Estos aislamientos (designados con las siglas LSP, seguidas de un número de serie/04), fueron serotipificados y fagotipificados en el Centro Nacional de Microbiología (CNM), Laboratorio de Referencia de *Salmonella*, Instituto de Salud Carlos III. Como controles en diferentes experimentos se utilizaron 3 cepas de *S. typhimurium* (LSP 31/93, LSP 60/01 y LSP 146/02), portadoras del plásmido pUO-*StVR2*, responsables de casos esporádicos de gastroenteritis y caracterizadas previamente en nuestro laboratorio<sup>6</sup>. También se utilizó la cepa tipo del género *Salmonella* (LT2) que alberga el plásmido de virulencia pSLT.

### Amplificación por PCR

La detección de genes-R (*bla*<sub>OXA</sub>, *bla*<sub>PSE</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *catA1*, *strA*/*B*, *aadA1*, *sul1*, *sul2*, y *tet[B]*) y de genes asociados a pSLT (*spvC*, *pefA*, *pefB*, *pefC*, *pefD*, *rck*, *rsk*, *samA*, *traT*, *traX*, *oriT*, *repA* [RepFIIA], *parA* y *parB*) se consiguió mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando condiciones e iniciadores previamente descritos<sup>4,6,9,10</sup>. En la detección de integrones de clase 1 se utilizaron iniciadores para las regiones conservadas 3'CS y 5'CS; y la inserción de los genes *bla*<sub>OXA</sub> y *aadA1* en los amplicones de 2000 pb se demostró mediante PCR anidada<sup>4,6</sup>.

### Análisis de secuencias de ADN aleatorias (RAPD)

Se realizó usando el iniciador OPB17 (5'-AGGGAACGAG-3') y las condiciones descritas por Lin et al<sup>11</sup>.

### Análisis de plásmidos

La extracción de ADN plasmídico se llevó a cabo utilizando el método Kado<sup>12</sup> que permite la obtención de plásmidos grandes, que posteriormente son separados mediante electroforesis en gel de agarosa.

### Análisis de macrorrestricción genómica y separación mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE)

Para el análisis de macrorrestricción, el ADN total de las 22 cepas asociadas al brote y de las cepas controles fue digerido independientemente con *Xba*I (30 U; 4 h a 37 °C) y *Bln*I (20 U; 4 h a 37 °C) ambas enzimas de Takara Biomedicals. Para la separación de los fragmentos de ADN por PFGE se utilizó el equipo CHEF-DR III System (Bio-Rad Laboratories) y se emplearon las condiciones estándar propuestas por "The Salm-gene project"<sup>13</sup>. *S. typhimurium* LT2 fue utilizada como marcador de tamaño de los fragmentos de macrorrestricción<sup>14</sup> (valores ligeramente superiores se obtienen al utilizar el marcador "γ Ladder PFG Marker", comercializado por New England BioLabs<sup>4-6</sup>). Los gels fueron analizados visualmente y los perfiles con todas las bandas alineadas fueron considerados idénticos.

### Análisis de hibridación

Los perfiles plasmídicos y de macrorrestricción genómica, después de su transferencia a membrana mediante Southern blot<sup>15</sup>, se hibridaron con las sondas *bla*<sub>OXA</sub> y *tet*(B) procedentes de LSP 31/93, y *spvC* procedente de LT2. Éstas se obtuvieron mediante amplificación por PCR (PCR DIG labeling mix; Roche Applied Science y GFX™ DNA y Gel Band Purification Kit; Amersham Biosciences). Los perfiles genómicos, además, se hibridaron con una sonda correspondiente al plásmido pUO-StVR2 completo, obtenido de *S. typhimurium* LSP 146/02. El plásmido fue extraído de un gel de agarosa, purificado por electroelución<sup>15</sup>, y marcado con el "DIG DNA labeling Kit" (Roche Applied Science).

## Resultados

### Descripción del brote

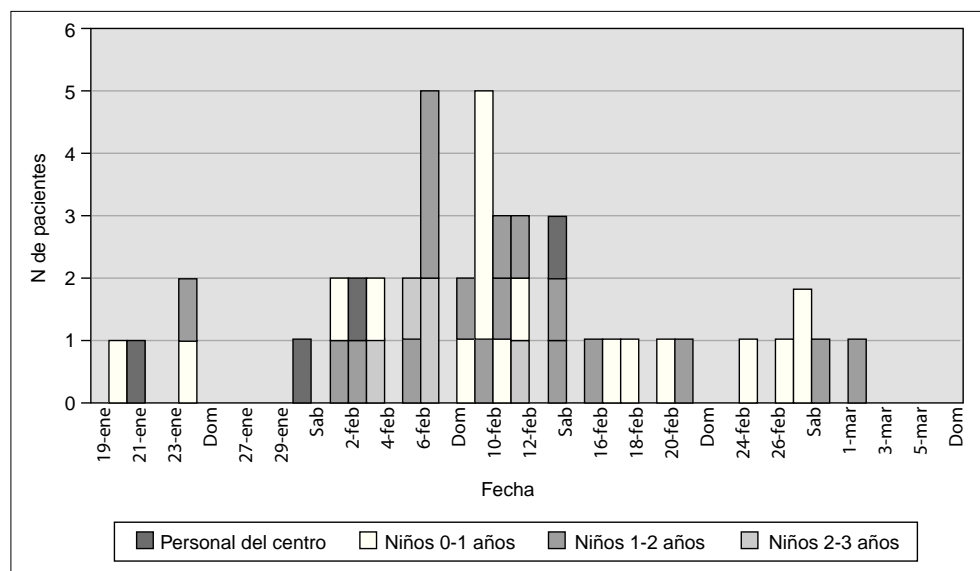
El 20 de febrero de 2004 la Sección de Vigilancia Epidemiológica de la Consejería de Salud del Principado de Asturias recibe la notificación de un posible brote de gastro-

enteritis en una guardería de Oviedo. Ese mismo día se inicia la investigación a través de la realización de encuestas epidemiológicas al personal y a los padres de los niños, se recoge información sobre la estructura y funcionamiento del Centro (menús, tipo de jornada, etc.) y se confirma la aparición de nuevos casos. El primer caso, niño de un mes, inicia los síntomas el 20 de enero, seguido por un segundo caso el día 21 y tres más hasta el 30 de enero. El resto de los casos se concentró entre el 1 de febrero y el 1 de marzo, con mayor número de afectados en las primeras 2 semanas de febrero. El número total de casos confirmados fue 22 (aislamiento de *Salmonella* en heces). La tasa de ataque de los casos confirmados fue 27,2% para los niños y 0 para el personal del centro. Así, aunque se realizó coprocultivo a todo el personal, los resultados fueron negativos. Para los casos posibles (23) la tasa de ataque fue 23,5% para los niños y 26,7% para el personal. En la figura 1 se recoge la curva epidémica por grupos de edad según inicio de síntomas. El día 25 de marzo se considera cerrado el brote al no haberse detectado más casos desde el día 1 del mismo mes, manteniéndose el control analítico de los portadores de *Salmonella* hasta su negativización. Finalmente, el análisis de alimentos no fue posible, ya que no se habían conservado, al transcurrir un mes desde el inicio del brote hasta su notificación.

Durante la inspección del Centro se detectaron algunas alteraciones estructurales y funcionales, por lo que se establecieron medidas correctoras en relación a la conservación de los alimentos, se instauraron sistemas de control de la temperatura y lavamanos de accionamiento no manual, y se recomendaron nuevas medidas higiénicas para el control de la situación. Ante la aparición de nuevos casos la Sección de Vigilancia Epidemiológica elaboró un documento escrito (con fecha de 27 de febrero) con medidas más estrictas. El 9 de marzo se repitió la inspección y durante los días 15 a 17 de marzo se impartió un curso de formación sobre prácticas sanitarias correctas al personal.

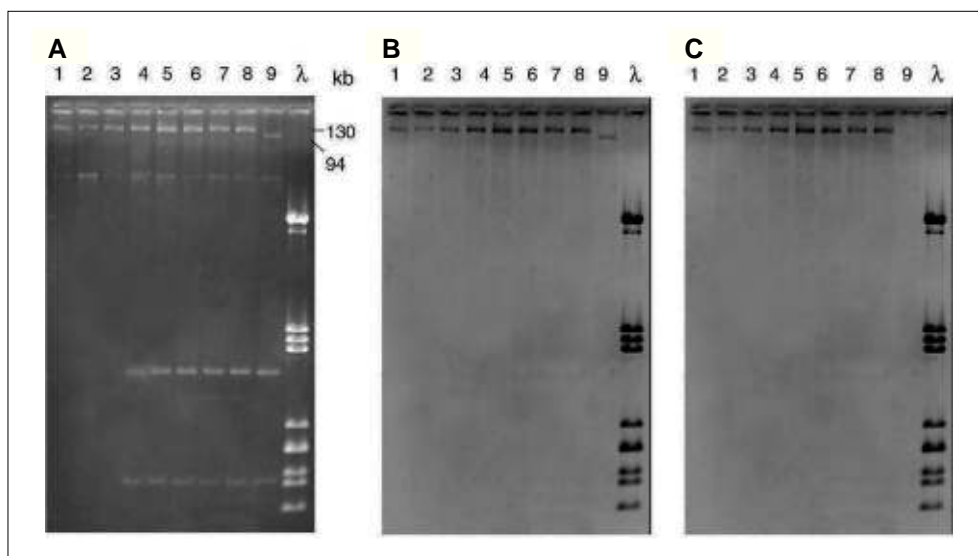
### Caracterización de los aislamientos de *Salmonella*

Un total de 27 aislamientos de *Salmonella* procedentes de 22 pacientes fueron enviados a través del HUCA al



**Figura 1.** Curva epidémica con los casos confirmados y posibles de *Salmonella* por grupos de edad según inicio de síntomas.

**Figura 2.** Análisis de plásmidos. A) Perfiles de plásmidos de cepas controles y aislamientos representativos del brote. Calles: 1, LSP 31/93 (pUO-*StVR2*); 2, LSP 60/01 (pUO-*StVR2*); 3, LSP 146/02; 4-8, aislamientos representativos del brote (LSP 57/04, LSP 60/04, LSP 98/04, LSP 117/04, LSP 118/04, respectivamente), y 9, LT2 (pSLT).  $\lambda$ , marcador de peso molecular, bacteriófago lambda digerido con *Pst*I. B) y C) Hibridación del panel (A) con las sondas *spvC* y *tet(B)*. La sonda *spvC* mapea en fragmentos de 125-130 (cepas y aislamientos con el plásmido pUO-*StVR2*) y 94 kb (cepa LT2).

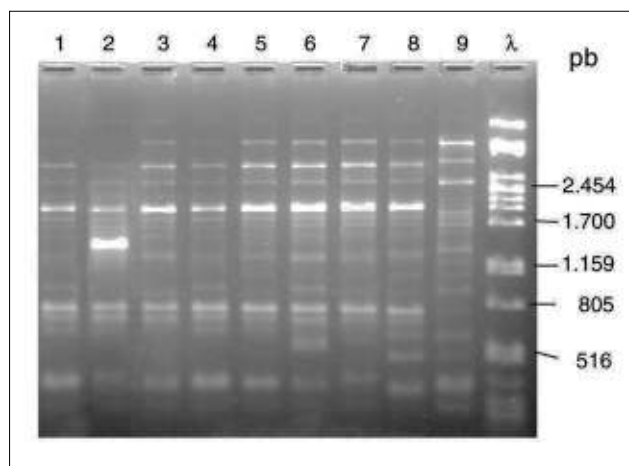


LSPPA para su registro y tipificación. La serotipificación mostró que todos ellos pertenecían a *S. typhimurium*, y la fagotipificación que eran no fagotipificables (NT), excepto uno que fue asignado al fagotipo DT104b. En los controles de seguimiento dos de los niños presentaron un episodio posterior causado por *Salmonella* serovar Enteritidis, que se consideró una nueva infección.

Los 27 aislamientos mostraron el perfil-R ACSSuT/*bla*<sub>OXA</sub>-*catA1-strA/B-aadA1-sul1-sul2-tet(B)*, un integrón con una región variable de tipo 2000 pb/*bla*<sub>OXA</sub>-*aadA1* (típica de InH), los genes *spv*, *pefA*, *pefB*, *pefC*, *pefD*, *rck*, *rsk*, *samA*, *traT*, *traX*, *oriT*, *repA*, *parA* y *parB* de pSLT y portaban un plásmido de gran tamaño, junto con otros más pequeños. Las sondas *spvC*, *bla*<sub>OXA</sub> y *tet(B)* hibridaron con el plásmido de gran tamaño que coincide con pUO-*StVR2* (fig. 2). Aislamientos posteriores de *Salmonella* en las heces de uno de los niños compartieron las mismas características, aunque presentaron además resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico.

El análisis de RAPD mostró que los 27 aislamientos de *S. typhimurium* generaban perfiles prácticamente idénticos (fig. 3). Por otro lado, el análisis de macrorrestricción genómica con *Xba*I y *Bln*I, seguido de separación de los fragmentos por PFGE, también reveló el mismo perfil en los 27 aislamientos (fig. 4). Los perfiles se determinaron considerando solamente los fragmentos bien definidos de tamaño igual o superior a 18 kb. El perfil combinado se correspondía con el denominado X1-B1 que es el generado por los aislamientos más antiguos de este tipo<sup>4</sup> que se mantenía como segundo en frecuencia en Asturias durante el período 2001-2002<sup>6</sup>.

En las cepas control portadoras del plásmido híbrido y en los aislamientos del brote, las sondas *spvC* y *tetB* hibridaron con un fragmento *Bln*I de aproximadamente 125-130 kb, que corresponde a pUO-*StVR2*. En estas mismas cepas, *spvC* y *tetB* hibridaron con fragmentos *Xba*I de 80 y 49 kb, respectivamente (lo que indica la presencia de al menos dos sitios de reconocimiento para esta enzima en el plásmido). Estos tamaños se calcularon utilizando como control el genoma de *S. typhimurium* LT2 digerido con las mismas endonucleasas. En esta última cepa,

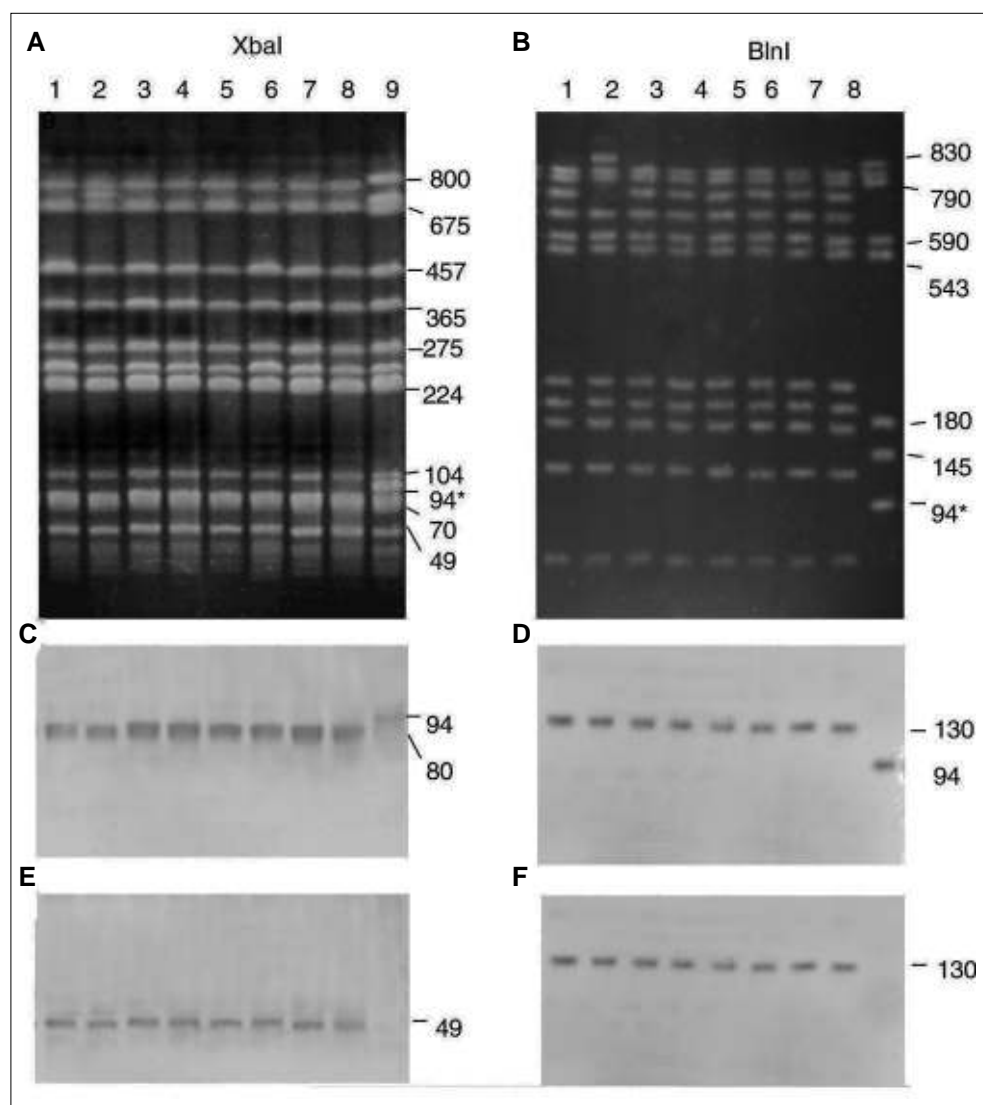


**Figura 3.** Perfiles RAPD generados con el cebador OPB-17. Calles: 1, LSP 31/93 (pUO-*StVR2*); 2, LSP 60/01 (pUO-*StVR2*); 3-8, aislamientos representativos del brote (LSP 57/04, LSP 59/04, LSP 60/04, LSP 98/04, LSP 117/04, LSP 118/04, respectivamente); y 9, LT2 (pSLT).  $\lambda$ , bacteriófago lambda digerido con *Pst* utilizado como marcador de peso molecular.

la sonda *spvC* hibridó con fragmentos *Bln*I y *Xba*I de 94 kb, tamaño esperado para el plásmido de virulencia.

## Discusión

En general los hospitales y las instituciones infantiles (guarderías, escuelas, etc.), así como los centros geriátricos, son un lugar frecuente de brotes de enfermedades infecciosas debido a la susceptibilidad de estos colectivos a la infección, su estrecha dependencia de cuidadores y al riesgo de contacto con fomites u objetos contaminados en el curso de los brotes. En Asturias, los niños de 0-4 años de edad acumulan el 30,6% de los casos de salmonelosis, con la mayor tasa de incidencia (con una media de 450 casos por cada 10<sup>5</sup> habitantes y por año) en menores de 2 años<sup>16</sup>. Entre los años 2000 y 2005 el LSP registró 3 brotes de sal-



**Figura 4.** Análisis de macrorrestricción-PFGE de aislamientos representativos implicados en el brote. A) y B) Perfiles obtenidos con *XbaI*-*BlnI*. Calles 1-9: cepas LSP 31/93 (X1-B1), LSP 60/01 (X2-B2), LSP 57/04, LSP 59/04, LSP 60/04, LSP 98/04, LSP 117/04, LSP 118/04 y LT2 (X0-B0). \*El fragmento de 94 kb corresponde al plásmido de virulencia serotipo específico pSLT. C) y D) Hibridación de los paneles (A y B) con la sonda *spvC*. E) y F) Hibridación de los paneles (A y B) con la sonda *tetB*.

monelosis en escuelas y guarderías, afectando al menos a 33 niños. Es de señalar que en 1994 se habían registrado, y estudiado en sí mismos, 2 brotes comunitarios por *Salmonella* serovar Virchow que afectaron a lactantes. En cada brote una diferente fórmula de leche maternizada comercial se consideró como la fuente de infección más probable<sup>17</sup> y una de las fórmulas provocó casos en 17 comunidades españolas<sup>18</sup>. A nivel internacional, los serovares de *Salmonella* implicados en brotes en instituciones dedicadas a niños son diversos, por ejemplo *Typhimurium*-MR<sup>19,20-22</sup>, Nienstedten<sup>23</sup>, Urbana<sup>24</sup>, Heidelberg<sup>25</sup>, Agona<sup>26</sup> y Virchow<sup>27</sup>.

En los brotes de salmonelosis en instituciones, la fuente de infección y la vía de transmisión desempeñan un papel importante y suelen ser difíciles de identificar. La fuente de infección y vías de transmisión más comunes son animales<sup>19,25</sup>, manos del personal cuidador<sup>22</sup>, utensilios de aseo y médicos<sup>21,24</sup>, así como alimentos<sup>17,18,26</sup>. El primer brote descrito en un hospital infantil en Estados Unidos ocurrió en Virginia en 1982 con un caso importado de *S. typhimurium*-MR (ACSuT) que se extendió rápidamente entre los bebés a pesar de las medidas adoptadas, sin evidencia de transmisión por vía alimentaria y cuya pro-

bable vía de transmisión fueron las manos del personal<sup>20</sup>. En nuestro brote, aunque la cepa está totalmente caracterizada, la fuente de infección no se pudo localizar. Según la evolución temporal de los casos se puede considerar probable que el modo de transmisión haya sido el contacto persona-persona entre las cuidadoras del Centro y los niños, lo que habría facilitado la diseminación fecal-oral, característica de este tipo de procesos. No se puede descartar que el(los) primer(os) caso(s), pudieron ser infectados por vía alimentaria, pero no así los casos subsiguientes.

Respecto a la cepa, cabe indicar que su característica diferencial es la de ser portadora del plásmido híbrido pUO-StVR2 solamente descrito en este serovar<sup>4,6</sup>. Este plásmido fue encontrado inicialmente en aislamientos de *S. typhimurium*, tanto de origen clínico como procedentes de alimentos destinados a consumo humano recogidos en el Principado de Asturias<sup>4,6,9</sup>. En un estudio más reciente realizado en el CNM (con aislamientos recogidos entre 2002-2004) se han identificado, también, aislamientos de este tipo en muestras clínicas de diferentes regiones españolas y de cerdos enfermos procedentes de León<sup>28</sup> (datos no publicados). Estos aislamientos generan perfiles de ma-

correstricción genómica lo suficientemente parecidos para ser adscritos a un mismo grupo o tipo genético que se podría considerar endémico, al menos, en España. Se debe señalar que aislamientos clínicos de carne de cerdo de *S. typhimurium* recogidos en Portugal presentaban caracteres muy similares a los de la cepa implicada en el brote (fenotipo de resistencia, integrón InH, perfil de plásmidos), y perfil de macrorrestricción con *Xba*I, datos que sugieren que podrían pertenecer al grupo *S. typhimurium* pUO-StVR, aunque en ellos la presencia del plásmido híbrido no siempre fue analizada<sup>29,30</sup>. Estos datos apoyan que la variante de *S. typhimurium* (pUO-StVR2) ha pasado de ser emergente y esporádica a endémica y frecuente en la península Ibérica.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias su colaboración en el aislamiento de las cepas. A la Profesora M. C. Mendoza por el continuo estímulo, comentarios y sugerencias durante la realización y redacción del trabajo. Este fue financiado con cargo al proyecto SAF-2005-04212, del Ministerio de Educación y Ciencia.

### Bibliografía

- Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. FEMS Microbiol Rev. 2002;26:141-8.
- Boyd D, Cloeckaert A, Chaslus-Dancla E, Mulvey MR. Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars Typhimurium DT 104 and Agona. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:1714-22.
- Davis MA, Hancock DD, Besser TE. Multiresistant clones of *Salmonella enterica*: the importance of dissemination. J Lab Clin Med. 2002;140:135-41.
- Guerra B, Soto S, Helmuth R, Mendoza MC. Characterization of a selftransferable plasmid from *Salmonella enterica* serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes with virulence and drug resistance genes. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:2977-81.
- Guerra B, Junker E, Miko A, Helmuth R, Mendoza MC. Characterization and localization of drug resistance determinants in multidrug-resistant, integron carrying *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains. Microb Drug Resist. 2004;10:83-91.
- Herrero A, Rodicio MR, González-Hevia MA, Mendoza MC. Molecular epidemiology of emergent multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains carrying the virulence-resistance plasmid pUO-StVR2. J Antimicrob Chemother. 2006;57:39-45.
- Rotger R, Casadesús J. The virulence plasmids of *Salmonella*. Int Microbiol. 1999;2:177-84.
- Martínez Navarro F, Antó JM, Castellanos PL, Pili M, Marset P, Navarro V. Salud Pública. Interamericana S.A.U, Madrid: Mc Graw-Hill Publishers; 1998.
- Del Cerro A, Soto SM, Mendoza MC. Virulence and antimicrobial-resistance gene profiles determined by PCR-based procedures for *Salmonella* isolated from samples of animal origin. Food Microbiol. 2003;20:431-8.
- Chu C, Hong S-F, Tsai C, Lin W-S, Liu T-P, Ou J-T. Comparative physical and genetic maps of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis, Cholerasuis, and Dublin. Infect Immun. 1999;67:2611-4.
- Lin AW, Usera MA, Barrett TJ, Goldsby RA. Application of random amplified polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. J Clin Microbiol. 1996;34:870-6.
- Kado CI, Liu S. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J Bacteriol. 1981;145:1365-73.
- Peters TM, Maguire C, Threlfall EJ, Fisher LS, Gill N, Gatto AJ. Salm-gene project. The Salm-gene project: a European collaboration for DNA fingerprinting for food-related salmonellosis. Euro Surveill. 2003;8:46-50.
- Liu S-L, Hessel A, Sanderson KE. The *Xba*I-*Bln*I-*Ceu*I genomic cleavage map of *Salmonella typhimurium* LT2 determined by double digestion, end labelling, and pulsed-field gel electrophoresis. J Bacteriol. 1993;175:4104-20.
- Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning. A laboratory Manual, 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
- González-Hevia MA, Cruz Martín M, Lobato MJ, Gutiérrez F, Solano P, Álvarez-Riesgo JA. *Salmonella* y Salmonelosis en el Principado de Asturias durante un período de siete años (1990-1996). Enferm Infecc Microbiol Clin. 1999;17:166-70.
- Martín MC, González-Hevia MA, Álvarez-Riesgo JA, Mendoza MC. *Salmonella* serotype Virchow causing salmonellosis in a Spanish region. Characterization and survey of clones by DNA fingerprinting, phage typing and antimicrobial resistance. Eur J Epidemiol. 2001;17:31-40.
- Usera MA, Echeita A, Aladueña A, Blanco MC, Reymundo R, Prieto MI, et al. Interregional foodborne salmonellosis outbreak due to powdered infant formula contaminated with lactose-fermenting *Salmonella virchow*. Eur J Epidemiol. 1996;12:377-81.
- Bezanson GS, Khakhria R, Bollegraaf E. Nosocomial outbreak caused by antibiotic-resistant strain of *Salmonella typhimurium* acquired from dairy cattle. Can Med Assoc J. 1983;128:426-7.
- Lamb VA, Mayhall CG, Spadora AC, Markowitz SM, Farmer III JJ, Dalton HP. Outbreak of *Salmonella typhimurium* gastroenteritis due to an imported strain resistant to ampicillin, chloramphenicol, and trimethoprim-sulphamethoxazole in a nursery. J Clin Microbiol. 1984;20:1076-9.
- Mahajan R, Mathur M, Kumar A, Gupta P, Faridi MM, Talwar V. Nosocomial outbreak of *Salmonella typhimurium* infection in a nursery intensive care unit (NICU) and paediatric ward. J Commun Dis. 1995;27:10-4.
- Kumar A, Nath G, Bhatia BD, Bhargava V, Loiwal V. An outbreak of multidrug resistant *Salmonella typhimurium* nursery. Indian Pediatr. 1995;32:881-5.
- Seals JE, Parrott PL, MacGowan JR, Feldman RA. Nursery Salmonellosis: delay recognition due to unusually long incubation period. Infect Control. 1983;4:205-8.
- Sirinavin S, Hotrakitya S, Suprasongsin C, Wannaying B, Pakeechep S, Vorachit M. An outbreak of *Salmonella urbana* infection in neonatal nurseries. Hosp Infect. 1991;18:231-8.
- Lyons RW, Samples CL, DeSilva HN, Ross KA, Julian EM, Checko PJ. An epidemic of resistant *Salmonella* in a nursery. Animal-to-human spread. JAMA. 1980;243:546-7.
- Espié E, Weill F, Brouard C, Capek I, Delmas G, Forgues A, et al. E-alert 9 March: Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants in France, linked to infant milk formula, investigations ongoing. Euro Surveill. 2005;10:3-10.
- Yagupsky F, Maimon PN, Dagan R. Increasing incidence of nontyphi *Salmonella* bacteremia among children living in southern Israel. Int J Infect Dis. 2002;6:94-7.
- Herrero A, Rodicio MR, Echeita A, Mendoza MC. Epidemiological impact of emerging multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium carrying virulence-resistance plasmids derived from pSLT. 2<sup>nd</sup> FEMS Congress of European Microbiologists; 2006.
- Antunes P, Machado J, Sousa JC, Peixe L. Dissemination amongst humans and food products of animal origin of a *Salmonella typhimurium* clone expressing an integron-borne OXA-30  $\beta$ -lactamase. J Antimicrob Chemother. 2004;54:429-34.
- Da Silva GJ, Carneiro P. Multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovars isolated from retail meat of poultry swine and cattle. 2nd FEMS Congress of European Microbiologists; 2006.