

Mecanismos de resistencia a betalactámicos y ácido nalidíxico en aislados clínicos de *Salmonella enterica* serotipo *hadar* y *bsilla*

Sr. Editor: A lo largo de los últimos años se ha descrito un incremento en los niveles de resistencia a diferentes antimicrobianos, incluyendo betalactámicos, gentamicina, cloranfenicol o ácido nalidíxico, en *Salmonella* spp.¹⁻⁴. En España, los serotipos más aislados son *typhimurium* y *enteritidis*², siendo el serotipo *hadar* el tercero más frecuentemente descrito^{2,3}. Además de éstos, se detectan multitud de otros serotipos minoritarios; así, en un estudio desarrollado por Usera et al² en el que se caracterizaron 5.327 aislados clínicos recuperados en 1999, el 93% de las cepas se distribuyó entre 17 serotipos, mientras que el 7% restante lo hizo entre otros 113 serotipos.

Aquí se presenta la sensibilidad a diferentes agentes antimicrobianos y el estudio de los mecanismos de resistencia a betalactámicos y ácido nalidíxico en dos aislados clínicos de *Salmonella*. Uno de ellos perteneciente a un serotipo con creciente importancia en nuestra área geográfica, el serotipo *hadar*, y el otro perteneciente a un serotipo sumamente inusual, el serotipo *bsilla*.

Ambas cepas fueron aisladas de las heces de sendos pacientes afectados de diarrea aguda en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínic de Barcelona y serotipificadas en el Copenhagen Staten Serum Institute. Se estudió mediante un panel comercial (Sensititre, Trek Diagnostic Systems Ltd, Gran Bretaña) los valores de sensibilidad a ampicilina, amoxicilina más ácido clavulánico, ampicilina más sulbactam, cefazolina, cefepime, cefotaxima, cefoxitina, ceftazidima, cefuroxima, imipenem, meropenem, piperacilina, piperacilina más tazobactam, ticarcilina, gentamicina, amikacina, cotrimoxazol, ciprofloxacino, norfloxacino, cloranfenicol y tetraciclina. Adicionalmente se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de ácido nalidíxico mediante Etest. La presencia de betalactamasas se estableció por IEF y PCR con cebadores específicos¹. Para determinar el tipo específico de betalactamasa se secuenciaron los amplicones obtenidos, mientras que la presencia de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* se determinó mediante PCR y secuenciación⁴.

A pesar de pertenecer a diferentes serotipos, el perfil de resistencia fue el mismo: resistencia a ampicilina, piperacilina, ampicilina más sulbactam, tetraciclina y ácido nalidíxico; sensibilidad intermedia a cefazolina, cefuroxima, amoxicilina más ácido clavulánico y piperacilina más tazobactam; las cepas fueron sensibles al resto de los antimicrobianos estudiados, aun cuando las CIM a ciprofloxacino (1 µg/ml) y norfloxacino (4 µg/ml) fueron más elevadas de las normalmente encontradas en cepas salvajes de este microorganismo⁵. En un reciente estudio de Cruchaga et al⁶ se han detectado elevados niveles de resistencia a ampicilina y ácido nalidíxico en cepas de *Salmonella* de diferentes serotipos. En particular, en el caso del serotipo *hadar*, en cepas de origen humano se detectó un 70 y un 91% de resistencia a ampicilina y ácido nalidíxico, respectivamente, aunque en otros serotipos diferentes de *hadar*, *enteritidis* y *typhimurium*, estos porcentajes decrecían hasta 45 y 26%, respectivamente.

El estudio mostró que ambas cepas presentaban una betalactamasa de pI 5,4, que se identificó como una TEM-1. Un fenotipo similar de resistencia a betalactámicos fue descrito en un conjunto de 18 cepas clínicas de *Salmonella* pertenecientes al serotipo *hadar*³, la posibilidad aducida fue una posible sobreexpresión en la producción de betalactamasa. Al respecto cabe decir que una sobreexpresión de la betalactamasa TEM-1 se ha asociado

con un descenso en la sensibilidad, e incluso con resistencia a la combinación de ampicilina e inhibidores de las betalactamasas⁷. Asimismo, ambas cepas presentaron una mutación en el codón 87 de *gyrA* (Asp-87 a Gly), sin que se hayan detectado mutaciones en *parC*. La presencia de esta mutación es acorde con lo descrito en diferentes trabajos^{4,8,9}, en donde se muestra que la presencia de una mutación en *gyrA* basta para desarrollar resistencia frente a ácido nalidíxico, pero sólo produce un descenso en la susceptibilidad frente a fluoroquinolonas, siendo precisa la comparecencia de mutaciones adicionales en *gyrA*, *gyrB* y/o *parC* para que aparezca resistencia frente a fluoroquinolonas⁹. Asimismo, es de reseñar que recientemente se ha demostrado el rol que tienen mecanismos como bombas de expulsión en el desarrollo de resistencia, tanto a las quinolonas como a otros antibacterianos^{9,10}.

En suma, nuestros resultados muestran que la diseminación y/o el desarrollo de resistencia frente a diferentes antibacterianos en *Salmonella* spp. puede extenderse a los serotipos más inusuales, siendo preciso un seguimiento y control de los mismos.

Joaquim Ruiz, Margarita María Navia,
Francesc Marco y Jordi Vila

Servicio de Microbiología. Institut Clínic
Infeccions i Immunologia (ICII). Hospital
Clínic. IDIBAPS. Facultat de Medicina.
Universitat de Barcelona. España.

Bibliografía

- Gallardo F, Ruiz J, Marco F, Townner KJ, Vila J. Increase of the antimicrobial resistance of *Salmonella typhimurium* clinical isolates: molecular epidemiology and investigation of the mechanisms of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim. *J Med Microbiol* 1999;48:367-74.
- Usera MA, Aladueña 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 (I). *Bol Epidemiol Sem* 2000;8: 45-8.
- Valdezate S, Echeitia A, Díez R, Usera MA. Evaluation of phenotypic and genotypic markers for characterization of the emerging gastroenteritis pathogen *Salmonella hadar*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:275-81.
- Ruiz J, Castro D, Goñi P, Santamaría JA, Borrego JJ, Vila J. Analysis of the mechanism of quinolone-resistance in nalidixic acid-resistant clinical isolates of *Salmonella* serotype *typhimurium*. *J Med Microbiol* 1997;46: 623-8.
- Stock I, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Salmonella enterica* strains. *Int J Antimicrob Agents* 2000;17:211-7.
- Cruchaga S, Echeita A, Aladueña A, García-Pena J, Frías N, Usera MA. Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:315-21.
- Stapleton P, Wu PJ, King A, Shannon K, French G, Philips I. Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxicillin and clavulanate in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39: 2478-83.
- Miró E, Verges C, García I, Mirelis B, Navarro F, Coll P, et al. Resistencia a quinolonas y betalactámicos en *Salmonella enterica* por mutaciones en las topoisomerasas, alteraciones en la permeabilidad celular y expresión de un sistema de expulsión activa. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22:200-7.
- Ridley A, Threlfall E. Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104. *Microb Drug Resist* 1998;4:113-8.
- Soto SM, Ruiz J, Mendoza MC, Vila J. *In vitro* selected fluoroquinolone-resistant mutants of *Salmonella enteritidis*: analysis of mechanisms involved in quinolone resistance. *International J Antimicrob Chemother*. En prensa.