

### CARACTERIZACION MOLECULAR DE SALMONELLAS AISLADAS DE ALIMENTOS MARINOS E IDENTIFICACION DE INTEGRONES EN CEPAS MULTIRESISTENTES

Elizabeth Ponce Rivas y Ashraf A. Khan

CICESE. Departamento de Biotecnología Marina. Km. 107 carretera Tijuana-Ensenada. Ensenada, B.C. México 22860. Fax:(646)175-05-69. E-mail: eponce@cicese.mx

Palabras clave: *Salmonella enterica*, PFGE, integron

**Introducción.** *Salmonella* spp. es reconocida el patógeno más importante de los alimentos consumidos por el humano (1). En estados Unidos hay un estimado de 800,000 a 4 millones de infecciones anualmente y aproximadamente 500 de esos casos son fatales. Los elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones e integrones diseminan los genes de resistencia a antibióticos por transferencia vertical u horizontal promoviendo la diseminación de multiresistencias.

El objetivo del presente trabajo fue llevar a cabo la caracterización molecular de muestras de alimentos marinos importados a Estados Unidos durante el periodo 2001-2005 e identificar y caracterizar los genes de resistencia de integrones clase 1 presentes en las especies con multiresistencias.

**Metodología.** Un total de 210 aislados, representando 64 serotipos, fueron analizados para resistencia a 16 antibióticos mas utilizados para uso humano y/veterinario utilizando la técnica de difusión en disco. Los aislados del serotipo predominante fueron analizados por electroforesis de campo pulsado (PFGE) utilizando la enzima *Xba*I. Todas las especies que fueron resistentes a tres o cuatro antibióticos diferentes fueron analizadas por PCR utilizando los oligos para intrones clase 1 (20). Los productos de PCR fueron secuenciados y analizados utilizando el programa DNASTar. Los plásmidos de estas especies resistentes fueron obtenidos e hibridados con sondas para integrones clase 1.

**Resultados y discusión.** El serotipo predominante fue Weltevreden con 37 aislados diferentes (17.6%), seguido por Newport (7.6%). El análisis de PFGE de estos aislados mostró 31 perfiles diferentes con 10-15 fragmentos de restricción lo que sugiere diversidad genética (Fig. 1). El dendograma mostró 4 grupos con 100% de similitud proveniente de diferentes países, años y alimentos marinos sugiriendo persistencia temporal de las especies. Estas 37 especies sin embargo. Un total de 55/210 aislados fueron resistentes al menos a 1 antibiótico. Los integrones de 3 cepas multiresistentes de *Salmonella enterica* (Newport especie 62, Thyphimurium var Copenhagen especie 629 y Lansing especie 803) fueron caracterizados (Tabla 1).

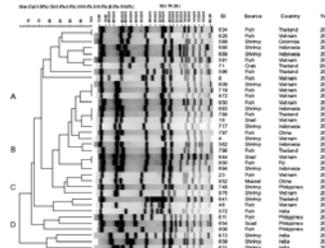


Fig. 1 Análisis de PFGE de los 37 aislados del serotipo Weltevreden.

Las productos de PCR conteniendo los integrones clase 1 fueron secuenciados y su estructura determinada. El integron de la 629 fue localizado en un megaplásmido.

Tabla 1. Aislados de *Salmonella enterica* con multiresistencias

Especie	Serotipo	Perfil de resistencia a antibióticos <sup>a</sup>						Genes de resistencia						
		Ap	Cm	Fl	Sm/Sp	Su	Tc	Tp	<i>aadA2</i>	<i>florR</i>	<i>su1</i>	<i>blaP1</i>	<i>dfrA1</i>	<i>dfrXII</i>
62	Newport	R	R	S	R	R	R	R	+	--	+	+	+	--
629	Thyphimurium S Var. Copenhagen	S	S	R	R	R	R	R	+	--	+	--	--	+
803	Lansing	R	R	S	R	R	R	R	+	--	+	+	--	+

<sup>a</sup>Antibióticos: Ap, ampicilina (10 µg/ml); Cm, cloranfenicol (30 µg/ml); Fl, florfenicol (30 µg/ml); Sm, streptomycin (10 µg/ml); spectinomycin (50 µg/ml); Su, sulfametoxazol (550 µg/ml); Tc, tetraciclina (30 µg/ml); Tp, trimetoprim.

**Conclusiones.** *S. enterica* serotipo Weltevreden fue el predominante en las muestras de alimento marino importado a E.U.A. Los ensayos de PFGE mostraron diversidad genética y persistencia en el tiempo, pero no multiresistencia. Se caracterizaron los integrones clase 1 de tres especies multiresistentes de los serotipos Newport, Thyphimurium Var. Copenhagen y Lansing.

**Agradecimiento.** National Center of Toxicological Research, US Food and Drug Administration.

**Bibliografía.**

- Brands, A. D., A. E. Inman, P. C. Gerba, C. J. Mare, S. J. Billington, L. A. Saif, J. F. Levine, y L. A. Joens. 2005. Prevalence of *Salmonella* spp. In oysters in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:893-897.
- Khan, A. A., C. Cheng, K. T. Van, C. Summage-West, M. S. Nawaz, y S. A. Khan. 2006. Characterization of class 1 integron resistance gene cassette in *Salmonella enterica* serovars Oslo and Bareilly from imported seafood. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:1308-1310.