

Patrones de resistencia y presencia de integrones de clase 1 en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de pacientes pediátricos provenientes de varias regiones de Venezuela.

Resistance patterns and detection of class 1 integrons in *Salmonella enterica* strains isolated from pediatric patients from various regions of Venezuela.

CAROLINA MATA¹, RICARDO OROPEZA² Y MARÍA ARAQUE^{1*}

¹Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida 5101-A, Venezuela.

²Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos 62210, México.

*Correspondencia al autor:

María Araque: Laboratorio de Microbiología Molecular, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida 5101-A, Venezuela. Telf: 0058-274-2403569, Fax: 0058-274-2403568, E-mail: araquemc@ula.ve.

Recibido Mayo 2008 - Aceptado Junio 2008

RESUMEN

Se estudiaron 117 cepas de *Salmonella enterica* aisladas de niños menores de 5 años de edad, con diagnóstico de gastroenteritis, provenientes de diferentes zonas urbanas en varias regiones de Venezuela durante el período 2004-2006, con el propósito de evaluar la susceptibilidad *in vitro* contra 19 agentes antibacterianos y determinar la presencia de integrones de clase 1. La determinación de la susceptibilidad de las cepas a los antibióticos se realizó por el método de difusión del disco en agar. Para la detección de los integrones de clase 1 se amplificaron, por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las regiones conservadas de estos elementos con los iniciadores específicos 5'SC y 3'SC. El 22,2% de las cepas de *S. enterica* fueron sensibles a los 19 antibióticos probados y el 65,8% presentó resistencia a por lo menos uno de éstos. La monorresistencia fue el patrón más frecuente (40%), mientras que la combinación de los marcadores estreptomycin+tetraciclina representó el fenotipo más comúnmente observado entre las cepas multirresistentes (14,5%). La presencia de integrones de clase 1 fue detectada en el 6,5% de las cepas resistentes. Dos de estos integrones se encontraron

en *S. Give* y *S. Havana*, serotipos raramente aislados en humanos. La variedad de los perfiles de resistencia y la escasa detección de integrones de clase 1 entre las cepas estudiadas sustentan el hecho de que no existe una relación clonal entre éstas, por lo tanto los casos clínicos pertenecen a eventos epidemiológicamente independientes con fuentes de infección diferentes.

PALABRAS CLAVE

Salmonella enterica, resistencia antimicrobiana, integron de clase 1

ABSTRACT

We studied 117 strains of *Salmonella enterica* from children younger than 5 years of age, with diagnosed gastroenteritis, from different urban areas of various regions of Venezuela during the period 2004-2006, to assess their *in vitro* susceptibility to 19 antibacterial agents and to determine the presence of class 1 integrons. Antimicrobial susceptibility was determined by the disk-diffusion assay and the detection of class 1 integrons was carried out by PCR amplification of the conserved regions of these elements with 5'SC and

³S specific primers. 22.2% of strains of *S. enterica* were sensible to the 19 antibiotics tested and 65.8% were resistant to at least one of them. The monoresistance was the most frequently observed pattern (40%), while the combination streptomycin+tetracycline was the most commonly observed phenotype among multiresistant strains (14.5%). The presence of class 1 integrons was detected in 6.5% of the resistant strains. Two of these integrons were found in *S. Give* and *S. Havana*. These serotypes are scarcely isolated in humans. The variety of resistance profiles and low detection of class 1 integrons support the hypothesis that there is no clonal relationship among the strains studied. Hence, these clinical cases belong to epidemiologically independent events with different sources of infection.

KEY WORDS

Salmonella enterica, antimicrobial resistance, class 1 integron

INTRODUCCIÓN

Los miembros del género *Salmonella* causan un amplio rango de enfermedades en el humano que pueden abarcar cuadros clínicos leves, como una gastroenteritis autolimitada, hasta infecciones sistémicas que amenazan la vida del paciente [1]. La fiebre tifoidea aún representa un problema sanitario global de magnitud considerable. Sin embargo, la gastroenteritis por *Salmonella* se encuentra entre las primeras causas más frecuentes de enfermedad bacteriana transmitida por alimentos [2].

En Venezuela, la prevalencia de la salmonelosis no se conoce con exactitud, siendo la mayoría de las veces diagnosticada clínicamente, obviándose la confirmación de la infección por cultivos bacteriológicos. En consecuencia, no existen registros oficiales a nivel nacional que determinen la frecuencia de aislamiento de este patógeno, los serotipos involucrados en las infecciones producidas en el humano y, mucho menos, los patrones de susceptibilidad antimicrobiana.

Por otra parte, el uso indiscriminado de los antibióticos, tanto en animales como en el hombre, han intensificado la gravedad de la salmonelosis, favoreciendo la selección de cepas resistentes a los antimicrobianos y la circulación de éstas en áreas geográficas específicas [3].

Muchos genes de resistencia están asociados con elementos genéticos llamados integrones, los cuales

pueden ser localizados en plásmidos, transposones o en el cromosoma bacteriano [4]. Hasta el momento se han descrito varias clases de integrones, siendo los de clase 1 los que se encuentran en la mayoría de las cepas de origen clínico [5]. La acumulación y la capacidad extraordinaria de recombinación y transferencia que poseen los genes de resistencia dentro de los integrones, y la fácil incorporación de estos al material genético de las bacterias, ha contribuido con la diseminación de genes de resistencia entre los enteropatógenos, especialmente en los diversos serotipos de *Salmonella* [4-6].

El conocimiento de la epidemiología de la salmonelosis es uno de los pilares fundamentales para su control sanitario, siendo la serotipificación el marcador epidemiológico de elección. La distribución de los serotipos de *Salmonella*, y la caracterización de los patrones de susceptibilidad en un área específica, pueden ayudar a determinar las fuentes de infección y las vías de propagación de la bacteria, así como la evaluación de la eficacia de las medidas de control sanitario adoptadas [7].

La finalidad de este estudio fue la de evaluar los patrones de susceptibilidad y la presencia de integrones de clase 1 en 117 cepas de *S. enterica* aisladas en niños menores de 5 años con gastroenteritis provenientes de tres regiones de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas: Se estudiaron ciento diecisiete cepas (117) de *S. enterica*, aisladas de niños menores de 5 años de edad, con diagnóstico de gastroenteritis, que fueron atendidos en centros hospitalarios urbanos en varios estados de Venezuela, durante el período comprendido entre el mes de enero del año 2004 hasta diciembre del año 2006. La distribución geográfica de las cepas se muestra en la tabla 1.

TABLA 1
Distribución del número de cepas de *S. enterica* de acuerdo al lugar de procedencia.

Región del país	Estado (centro de salud)	Número de cepas
Central	Distrito Capital (Hospital Universitario de Caracas)	9
	Bolívar (Complejo Hospitalario Ruiz y Paéz)	8
Oriental	Monagas (Hospital "Dr. Manuel Núñez Tovar")	11
	Táchira (Hospital del Seguro Social "Patrocinio Peñuela Ruiz")	3
Occidental	Mérida (Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes)	38
	Zulia (Hospital Universitario de Maracaibo)	48
Total		117 cepas

Los procedimientos de aislamiento, identificación bioquímica y pruebas serológicas con antisuero somático polivalente (Fuvesin) de las cepas de *Salmonella*, fueron realizados por los respectivos laboratorios de microbiología de los centros hospitalarios pertenecientes a cada región estudiada. La serotipificación se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Higiene "Dr. Rafael Rangel" (Caracas, Venezuela) y en el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (Maracaibo, estado Zulia, Venezuela). Las cepas fueron conservadas en agar BHI (Brain Heart Infusion Agar, BBL) y glicerol al 20% a -20 °C.

Pruebas de susceptibilidad: La susceptibilidad de las cepas de *S. enterica* frente a cada antibiótico se determinó mediante el método de difusión del disco en agar, de acuerdo a las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [8]. La cepa de control empleada en estos ensayos fue *Escherichia coli* ATCC 25922.

Los discos de antibióticos (BBL) utilizados fueron: ampicilina (10µg), ticarcilina (75µg), piperacilina/tazobactam (100/10µg), amoxicilina/ácido clavulánico (20/10µg), cefuroxima (30µg), cefotaxima (30µg), ceftazidima (30µg), cefepima (30µg), gentamicina (10µg), amikacina (30µg), kanamicina (30µg), netilmicina (30µg), tobramicina (10µg), estreptomina (10µg), tetraciclina (30µg), ácido nalidíxico (30µg), ciprofloxacina (5µg), trimetoprima/sulfametoxazol (1,25/23,75µg) y cloranfenicol (30µg).

Extracción del ADN cromosomal: En esta fase del estudio se incluyeron sólo aquellas cepas de *S. enterica* que fenotípicamente mostraron resistencia a uno o más agentes antibacterianos. Cada una de las cepas fue reactivada en 5 ml de caldo tripticasa soja (BBL) e incubada en agitación a 37 °C durante 24 horas. A partir de cada cultivo bacteriano fresco, se obtuvo por centrifugación la pastilla celular para la extracción del ADN cromosomal, para lo cual se utilizó un sistema comercial (AquaPure Genomic DNA Isolation Kit, BioRad) siguiendo las recomendaciones del proveedor. Las pastillas de ADN cromosomal se colocaron en tubos eppendorf estériles y fueron almacenadas a -20 °C.

Detección de integrones de clase 1 por PCR:

Para la detección de los integrones de clase 1 se utilizaron como iniciadores los segmentos conservados 5' SC (5' GGC ATC CAA GCA GCA AG 3') y 3' SC (5' AAG CAG ACT TGA CCT GA 3'). La mezcla de

amplificación se realizó en un volumen final de 100 µl y estuvo conformada por los siguientes componentes: 16 µl de tampón PCR, 16 µl dNTPs (1,25 mM), 2,5 µl de cada iniciador (20 µM), 0,5 µl de polimerasa (5 U/µl), 60,5 µl de H₂O destilada, y 2 µl de ADN. El programa de amplificación se realizó de acuerdo a las condiciones descritas por Lévesque y col. [9]. Los amplicones obtenidos fueron observados en corridas electroforéticas en geles de agarosa (1%), teñidos con bromuro de etidio (Sigma) y fotografiados con la cámara MultiImage™ Light Cabinet (Alpha Innotech Corporation). Como control positivo se utilizó *S. Typhi* ATCC 14028 y negativo la mezcla de amplificación sin ADN. Ladder 1 kb (Plus DNA) se utilizó como marcador de peso molecular.

Análisis estadístico: El análisis de los resultados se llevó a cabo empleando el programa SPSS versión 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences, 2004). Se aplicó un análisis inferencial para determinar las variaciones estadísticamente significativas entre la resistencia de las cepas a cada uno de los antibióticos y la región geográfica de procedencia. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa la correspondiente a $p < 0,05$ y las variables significativas fueron analizadas utilizando la prueba de Scheffé.

RESULTADOS

De un total de 117 cepas de *S. enterica* estudiadas, 26 (22,2%) fueron sensibles a los 19 antibióticos probados, 77 (65,8%) presentaron resistencia por lo menos a uno de estos y 14 (12%) demostraron susceptibilidad intermedia (datos no mostrados).

En la tabla 2 se puede observar que, independientemente de la procedencia de las cepas, más del 95% de éstas fue sensible a los agentes β-lactámicos y a la mayoría de los aminoglucósidos probados. La estreptomina fue el marcador de resistencia más frecuentemente observado en las cepas analizadas (40,2%), seguido por la tetraciclina (37,6%) y el ácido nalidíxico (9,4%). Considerando el total de las cepas, el fenómeno de susceptibilidad intermedia se observó con mayor frecuencia (21,4%) ante la tetraciclina. Sin embargo, el valor más elevado de susceptibilidad intermedia (22,2%) ocurrió ante la estreptomina, en las cepas provenientes de la región central.

TABLA 2
Susceptibilidad de las cepas de *S. enterica* a los antibacterianos y su distribución por región geográfica.

Antibiótico	Región de procedencia de las cepas									Total susceptibilidad (N = 117)		
	Central (n = 9)			Oriental (n = 19)			Occidental (n = 89)			S	I	R
	S %	I %	R %	S %	I %	R %	S %	I %	R %			
Ampicilina	77,8	0	22,2	94,7	0	5,3	97,8	0	2,2	95,7	0	4,3
Ticarclina	66,7	0	33,3	94,7	0	5,3	98,9	0	1,1	95,7	0	4,3
Piperacilina-Tazobactam	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Amoxicilina-Ac. clavulánico	100	0	0	94,7	0	5,3	96,6	0	3,4	96,6	0	3,4
Cefuroxima	88,9	0	11,1	94,7	5,3	0	96,6	0	3,4	95,7	0,9	3,4
Cefotaxima	88,9	11,1	0	100	0	0	98,9	1,1	0	98,3	1,7	0
Ceftazidima	88,9	0	11,1	100	0	0	95,5	0	4,5	95,7	0	4,3
Cefepima	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Gentamicina	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Amikacina	100	0	0	94,7	5,3	0	100	0	0	99,1	0,9	0
Kanamicina	66,7	0	33,3	100	0	0	97,8	0	2,2	95,7	0	4,3
Netilmicina	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Tobramicina	100	0	0	100	0	0	98,9	0	1,1	99,1	0	0,9
Estreptomina	33,3	22,2	44,4	47,4	5,3	47,4	57,3	4,5	38,2	53,9	5,9	40,2
Tetraciclina	33,3	0	66,7	52,6	5,3	42,1	39,3	27,0	33,7	41,0	21,4	37,6
Ácido nalidixico	55,6	0	44,4	94,7	5,3	0	91,0	1,1	7,9	88,9	1,7	9,4
Ciprofloxacina	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Trimetoprima-Sulfametoxazol	100	0	0	94,7	0	5,3	100	0	0	99,1	0	0,9
Cloranfenicol	100	0	0	100	0	0	97,8	0	2,2	98,3	0	1,7

S: sensible; I: intermedia; R: resistente.

Por otra parte, el análisis inferencial aplicado a los resultados de susceptibilidad permitió demostrar que existían diferencias estadísticamente significativas entre las variables de resistencia a la ampicilina (p=0,02) y a la ticarcilina (p=0,00), y las cepas provenientes de las zonas central y occidental. De igual forma, estas diferencias estadísticas fueron observadas entre la resistencia al ácido nalidixico (p=0,04) y a la kanamicina (p=0,00) y las cepas de las regiones oriental y occidental (datos no mostrados).

Tomando en consideración el número de marcadores de resistencia y la procedencia geográfica de las 77 cepas (65,8%) que presentaron resistencia al menos a uno de los antibióticos probados, se observó que 47 de éstas (40%), provenientes de las tres regiones geográficas estudiadas, fueron resistentes a un sólo antibiótico, mientras que las 30 cepas (25,8%) restantes se distribuyeron en 5 fenotipos de

multirresistencia. De este grupo, 18,8% presentaron resistencia a 2 antibióticos, destacándose la combinación estreptomina (STR) + tetraciclina (TET) con un 14,5% y las cepas con 3, 4, 5 y 7 marcadores de resistencia constituyeron en su totalidad un 7% (Tabla 3). Esta variabilidad fenotípica de resistencia se observó principalmente entre las cepas provenientes de la región central.

TABLA 3
Distribución de las cepas de *S. enterica* resistentes y multirresistentes de acuerdo al número de marcadores y patrones de resistencia.

Nº de marcadores de resistencia	Patrones de resistencia	Nº de cepas	%
1	STR	24	20,5
	TET	16	13,6
	NAX	5	4,2
	CXM	1	0,9
	KAN	1	0,9
	5 patrones	47	40,0
2	STR TET	17	14,5
	TET NAX	2	1,7
	AMP TET	1	0,9
	AMC TET	1	0,9
	CAZ STR	1	0,9
	5 patrones	22	18,8
3	CAZ TET NAX	1	0,9
	1 patrón		
4	TIC KAN STR TET	1	0,9
	1 patrón		
5	AM TIC AMC TE SXT	1	0,9
	AM TIC STR TET	1	0,9
	AMC CAZ STR TET CLO	1	0,9
	3 patrones	3	2,6
7	AMP TIC CXM CAZ TNN NAX	1	0,9
	AMP TIC CXM STR TET NAX	1	0,9
	AMC CXM CAZ STR TET NAX CLO	1	0,9
	3 patrones	3	2,6

AMP: ampicilina; TIC: ticarcilina; CXM: cefuroxima; CAZ: ceftazidima; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico; KAN: kanamicina; TNN: tobramicina; STR: estreptomina; TET: tetraciclina; NAX: ácido nalidixico; SXT: trimetoprima/sulfametoxazol; CLO: cloranfenicol.

Los integrones de clase 1 fueron detectados en el 6,5% (5/77) de las cepas de *Salmonella* resistentes (Fig. 1 y Tabla 4). Estas cepas fueron clasificadas en diferentes subespecies o serotipos (*S. enterica* ser. Give, *S. enterica* ser. Typhimurium, *S. enterica* subes. *arizonae*, *S. enterica* subes. *salamae*, *S. enterica* ser. Havana) y se aislaron en dos de las regiones geográficas estudiadas, la central y la occidental, donde los estados involucrados fueron: Distrito Capital (1 cepa), Zulia (2 cepas), Táchira (1 cepa) y Mérida (1 cepa). De acuerdo al tamaño del integrón, estos se dividieron en 3 tipos: uno de 700 pb y dos de 1.000 y 2.000 pb. El tamaño del integrón tuvo una relación inversa al número de marcadores presentes en las cepas. En la cepa *S. Give* con 7 marcadores de resistencia (AMP, TIC, CXM, CAZ, KAN, TNN, NAX) se detectó el integrón de menor tamaño (700 pb), mientras que las cepas de *Salmonella* monorresistentes (STR o KAN) portaban un integrón de clase 1 de 2.000 pb.

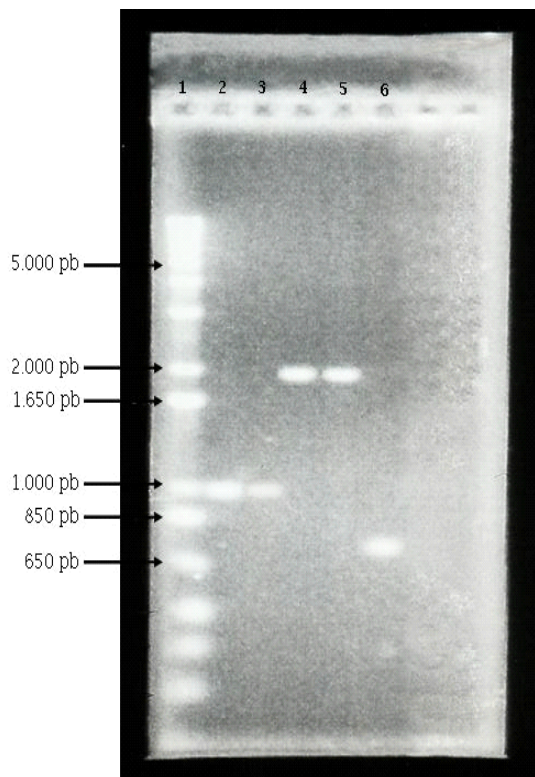


Figura 1. Amplificación por PCR de integrones de clase 1 en cepas de *Salmonella enterica* resistentes y multirresistentes. 1: 1Kb Plus DNA ladder; 2: *S. Typhimurium*; 3: *S. subespecie arizonae*; 4: *S. subespecie salamae*; 5: *S. Havana*; 6: *S. Give*.

TABLA 4

Distribución y principales características de los integrones de clase 1 presentes en las cepas de *S. enterica* resistentes.

Subespecie o serotipo de <i>Salmonella enterica</i>	Tamaño del amplicón (pb)	Nº de marcadores de resistencia	Patrón de resistencia	Origen de la cepa Región/Estado
Serotipo Give	700	7	AMP TIC CXM CAZ TNN NAX	Occidental/Zulia
serotipo Typhimurium	1.000	5	AMP TIC STR TET	Central/Distrito Capital
subespecie. <i>arizonae</i>	1.000	2	STR TET	Occidental/Táchira
subespecie. <i>salamae</i>	2.000	1	STR	Occidental/Mérida
Serotipo Havana	2.000	1	KAN	Occidental/Zulia

AMP: ampicilina; TIC: ticarcilina; CXM: cefuroxíma; CAZ: ceftazidíma; KAN: kanamicina; TNN: tobramicina; STR: estreptomycin; TET: tetraciclina; NAX: ácido nalidíxico.

DISCUSIÓN

En este estudio se demostró que más de un 95% de las cepas analizadas mostraron sensibilidad a los antibióticos utilizados en primera línea (cefalosporinas y cloranfenicol) para el tratamiento de las infecciones graves o sistémicas causadas por *Salmonella* en niños (Tabla 2). Resultados similares fueron reportados por

Tsai y col. [10], quienes investigaron la susceptibilidad antimicrobiana de 81 aislamientos de *S. enterica* del grupo D en niños provenientes del sureste de Taiwan. Ellos encontraron que todos los aislamientos fueron susceptibles a las cefalosporinas de espectro amplio y las fluoroquinolonas, y más del 75% demostraron sensibilidad a la ampicilina y al cloranfenicol.

A pesar de que en este estudio el 65,8% de las cepas mostraron por lo menos un marcador de resistencia, éstas fueron resistentes a antibióticos que, por lo general, no se utilizan o son ocasionalmente prescritos en la población infantil, como es el caso de la estreptomycin (40,2%) y la tetraciclina (37,6%). La resistencia a estos 2 antibióticos determinaron los patrones de monoresistencia y los fenotipos de susceptibilidad intermedia más frecuentemente observados (Tablas 3). Por otra parte, los análisis estadísticos demostraron que no hubo un patrón de resistencia particular que estuviera relacionado directamente con el área geográfica en donde habían sido aisladas las cepas.

Dada la heterogeneidad de los patrones de resistencia y el bajo número de serotipos o subespecies representantes para cada uno de ellos, se hace difícil establecer alguna relación epidemiológica entre las cepas de *Salmonella*, los patrones de resistencia mostrados y la región geográfica de procedencia. Estos resultados permiten suponer que la fuente, diseminación y la frecuencia de circulación de las cepas en las áreas estudiadas son diferentes, y que sus comportamientos particulares obedecen a una dinámica geográfica local de las relaciones entre los elementos que conforman la tríada hospedero, *Salmonella* y ambiente. En este sentido, es importante destacar que en estas relaciones epidemiológicas, el consumo de antibióticos por el hombre como su utilización en los animales y la agroindustria influyen directamente en la selección de cepas resistentes.

Una gran variedad de genes de resistencia están asociados con elementos genéticos llamados integrones [6]. De los nueve tipos de integrones hasta ahora conocidos, los de la clase 1 son los más comunes y han sido detectados en diferentes serotipos de *Salmonella* [11]. En este estudio encontramos que menos del 10% de las cepas de *Salmonella* resistentes presentaron por lo menos un integrón de clase 1. Sin embargo, a pesar de esta frecuencia baja, su detección fue independiente del serotipo o subespecie de *Salmonella* estudiada (*S. enterica* ser. Give, *S. enterica* ser. Typhimurium, *S. enterica* subes. *arizonae*, *S. enterica* subes. *salamae*, *S. enterica* ser. Havana) y del lugar geográfico de procedencia de la cepa (Tabla 4). Resultados similares fueron reportados por Gebreyes y col. [12], quienes demostraron la presencia de integrones de clase 1 en el 2,2% de las 1.314 cepas

de *Salmonella* analizadas. Los integrones fueron detectados en los serotipos Derby, Muenchen y Worthington aislados de localidades diferentes.

A pesar de que los integrones de clase 1 han sido reportados extensamente en diversos serotipos de *S. enterica* [13], en este trabajo se demostró la presencia de integrones de clase 1 en serotipos poco conocidos y raramente aislados en humanos, como *S. Give* y *S. Havana*. En el caso de *S. Give*, no se ha reportado hasta el momento este serotipo con un fenotipo de resistencia múltiple (AMP, TIC, CXM, CAZ, KAN, TNN, NAX) y portando un integrón de clase 1 de 700 pb como el hallado en este trabajo. Por otra parte, *S. Havana* ha sido originalmente aislada en animales. De hecho Ebner y col. [14], en un estudio realizado en 104 serovariedades de *Salmonella* aisladas en animales, encontraron un único serotipo de *S. Havana* resistente a la estreptomycinina con un integrón de clase 1 de 1000 pb en la sangre de un bovino. En este estudio, *S. Havana* fue aislada de un paciente pediátrico con gastroenteritis. Este serotipo demostró resistencia a un sólo antibiótico (kanamicina) y el integrón presente en esta cepa era de 2000 pb. Estos datos sustentan el hecho de que los integrones son elementos genéticos ubicuos en la población bacteriana y, en este caso particular, en el género *Salmonella* [6].

Rodríguez y col. [11] y Liebert y col. [15], afirman que los integrones pertenecientes a la clase 1 están usualmente asociados a los transposones del grupo Tn21. En este grupo se incluye el Tn2, el cual transporta el gen casete *aadA1* que confiere resistencia a la estreptomycinina y a otros aminociclitolos. Aunque en este trabajo no se realizaron ensayos para la detección específica del gen *aadA1*, es posible que el mismo pudiera estar presente en todos los serotipos o subespecies de *S. enterica* donde se demostró la presencia del integrón de clase 1, en vista de que estas cepas tuvieron como marcador común la resistencia a la estreptomycinina o a la kanamicina.

Considerando la variedad de patrones de resistencia, el tamaño y número de integrones detectados en las distintas cepas de *S. enterica*, es probable que parte de los genes de resistencia se encuentren en el cromosoma bacteriano o en otros tipos de integrones o elementos genéticos extracromosomales. En consecuencia, son necesarios más estudios que permitan reconocer la ubicación de estos genes de resistencia y su relación con los fenotipos de resistencia observados en las cepas estudiadas.

CONCLUSION

Los hallazgos obtenidos en este trabajo permiten afirmar que en las regiones geográficas estudiadas circula una gran diversidad de cepas de *S. enterica* con características serológicas y fenotípicas diversas, especialmente en lo que corresponde a la susceptibilidad a los agentes antibacterianos. La variedad de perfiles de resistencia y la escasa detección de integrones de clase 1 entre las cepas, sugiere que es poco probable que exista una relación clonal entre éstas, y que los casos clínicos estudiados pertenecen a eventos epidemiológicamente independientes con fuentes de infección diferentes.

Los resultados de este estudio proporcionan una valiosa información epidemiológica que revela la necesidad de mantener bajo vigilancia las cepas de *Salmonella* resistentes a los antimicrobianos, aisladas en diversas zonas del país en una población de alto riesgo, como la que constituye los niños menores de 5 años.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los Jefes de Laboratorio y al personal técnico de los hospitales: Universitario de Caracas, Universitario del Zulia, Hospital del Seguro Social "Patrocinio Peñuela Ruiz", Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Hospital Dr. Manuel Núñez Tovar y el Complejo Hospitalario Ruíz y Páez, por habernos suministrado el material biológico utilizado en este estudio.

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Consejo de Estudios de Postgrado y el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de Los Andes, a través del proyecto ADG FA-02-97.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Graham S. Salmonellosis in children in developing and developed countries and populations. *Curr Opin Infect Dis.* 2002; 15: 507-512.
- [2] Egorova S, Kaftyreva L, Grimont PA, Weill FX. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant nontyphoidal *Salmonella* isolates in adults in Saint Petersburg, Russia (2002-2005). *Microb Drug Resist.* 2007; 13(2): 102-107.
- [3] Akinyemi KO, Philipp W, Beyer W, Böhm R. *In vitro* antimicrobial susceptibility patterns of *Salmonella enterica* serovars and emergence

of *S. Typhimurium* phage type DT071 in a suspected community-associated outbreak in Lagos, Nigeria. *J. Infect. Developing Countries*. 2007; 1(1): 48-54.

[4] O'Mahony R, Quinn T, Drudy D, Walsh C, Whyte P, Mattar S, Fanning S. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* from food sources in Colombia: evidence for an unusual plasmid-localized class 1 integron in serotypes Typhimurium and Anatum. *Microb. Drug Resist.* 2006; 12(4): 269-277.

[5] Onyango D, machoni F, Kakai R, Waindi EN. Multidrug resistance of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Typhimurium isolated from clinical samples at two rural hospitals in Western Kenya. *J Infect Developing Countries*. 2008; 2(2): 106-111.

[6] Murphy BP, O'Mahony R, Buckley JF, Shine P, Boyd EF, Gilroy, Fanning S. Investigation of a global collection of nontyphoidal *Salmonella* of various serotypes cultured between 1953 and 2004 for the presence of class 1 integrons. *FEMS Microbiol Lett.* 2007; 266(2): 170-176.

[7] Liébana E. Molecular tools for epidemiological investigations of *S. enterica* subspecies enterica infections. *Res Vet Sci*. 2002; 169-175.

[8] Clinical and Laboratory Standards Institute Document M100-S17. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically M7-A7. Vol. 27, N° 1, 17th informational supplement Wayne, PA: CLSI. 2007. p.98-103.

[9] Lévesque C, Piché L, Larose C, Roy P. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39(1): 185-191.

[10] Tsai KS, Yang YJ, Wang SM, Chiou CS, Liu CC. Change of serotype pattern of group D non-typhoidal *Salmonella* isolated from pediatric patients in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2007; 40: 234-239.

[11] Rodríguez I, Martín MC, Mendoza MC, Rodicio R. Class 1 and 2 integrons in non-prevalent serovars of *Salmonella enterica*: structure and association with transposons and plasmids. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58: 1124-1132.

[12] Gebreyes W, Thakur S, Davies P, Funk J, Altier C. Trends in antimicrobial resistance, phage typing and integrons among *Salmonella* serotypes from pigs, 1997-2000. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53: 997-1003.

[13] Rao S, Maddox CW, Hoiem-Dalen P, Lanka S, Weigel RM. Diagnostic accuracy of class 1 integron PCR method in detection of antibiotic resistance in *Salmonella* isolates from swine production systems. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(3): 916-920.

[14] Ebner P, Kimberley G, Mathew A. Class 1 integrons in various *Salmonella enterica* serovars isolated from animals and identification of genomic island SGI 1 in *Salmonella enterica* var. Meleagridis. *J Antimicrobial Chemother.* 2004; 53: 1004-1009.

[15] van Essen-Zandbergbergen A, Smith H, Veldman K, Mevius D. Occurrence and characteristics of class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. In the Netherlands. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59(4): 746-750.

[16] Villa L, Carattoli A. Integrons and transposons on the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium virulence plasmid. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(3): 1194-1197.