



Asociación entre susceptibilidad antimicrobiana y genómica en la determinación de resistencias en aislados patógenos porcinos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* y *Escherichia coli*

Anna Vilaró^a, Elena Novell^a, Marta Alcobé^a, Lourdes Migura^b, Lorenzo Fraile^c

^a Grup de Sanejament Porcí, Lleida.

^b IRTA. Programa de Sanitat Animal. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, 08193, Barcelona.

^c Departament de ciència animal, ETSEA, Universitat de Lleida, 25198, Lleida.



Introducción y objetivos

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP), *Streptococcus suis* (SS) y *Escherichia coli* (EC) son bacterias patógenas que generan grandes pérdidas económicas en el sector porcino. Los estudios de sensibilidad antimicrobiana (AST) constituyen la práctica habitual para determinar el mejor tratamiento, mientras que la secuenciación del genoma completo (WGS) está adquiriendo mayor relevancia en el diagnóstico veterinario.

Este estudio evalúa la asociación entre los resultados de AST y la detección de determinantes de resistencia mediante WGS.

Metodología

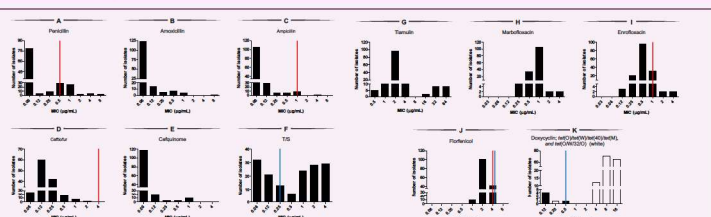
- Se seleccionaron cepas aisladas de casos clínicos (2018-2022).
 - 154 aislados de SS
 - 169 de APP
 - 206 de EC
- Los **AST** se realizaron por microdilución en placa según las indicaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Se evaluaron 11/12 antibióticos utilizados en campo a diferentes concentraciones.
- Las cepas se **secuenciaron** con Illumina NovaSeq6000 (2x250bp) y los datos se procesaron mediante varias herramientas bioinformáticas, entre ellas, Fastp, FastQC, SPAdes, QUAST, rMLST y AMRFinderPlus.
- La **asociación AST-fenotipo/WGS-genotipo** se evaluó mediante la prueba Kappa de Cohen. Se asignó buena concordancia cuando $k > 0,6$.

Resultados y discusión

El análisis genómico identificó en los aislados de **SS** 11 genes de resistencia, *tet(O)* (85%) y *erm(B)* (86%) fueron los más prevalentes. En **APP**, se identificaron 11 genes de resistencia y 6 mutaciones puntuales siendo *tet(B)* (51%) y *bla_{ROB}* (29%) los genes más prevalentes. Por último, en **EC** se detectaron 79 genes de resistencia y 16 mutaciones, siendo *tet(B)* (43%) y *florR* (41%) los más comunes.

En general, el estudio de asociación mostró buena concordancia entre el fenotipo y el genotipo para los antibióticos estudiados:

- En SS, no se pudo evaluar debido a la ausencia de algunos puntos de corte y la falta de bases de datos de mutaciones puntuales.
- En APP, la asociación fue buena con la amoxicilina, florfenicol, oxitetraciclina y enrofloxaco (véase *tabla 1*).
- En EC, con ceftiofur, enrofloxaco, gentamicina y neomicina (véase *tabla 2*).



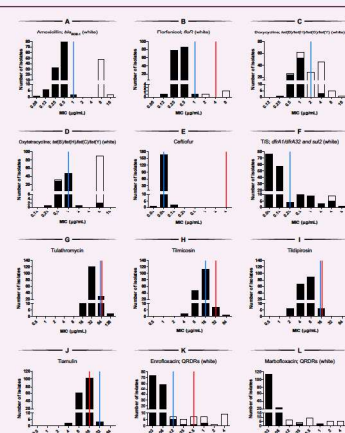
SS Fig. 1. Distribución de CMIs de los aislados de SS para cada antibiótico. Los ECOFFs se muestran en azul y los CBP en rojo.

Antimicrobiano	WT basado en ECOFF		NWT basado en ECOFF		Concordancia (coeficiente K)
	ARG -	ARG +	ARG -	ARG +	
Amoxicilina	120	0	0	49	1 (95 % CI: 0,65-1,15)
Florfenicol	166	0	0	3	1 (95 % CI: 0,65-1,15)
T/S	137	0	28	4	0,19 (95 % CI: 0,10-0,28)
Oxitetraciclina	78	1	3	87	0,95 (95 % CI: 0,80-1,10)
Doxiciclina	78	39	3	49	0,51 (95 % CI: 0,37-0,65)
Enrofloxaco	138	2	4	25	0,87 (95 % CI: 0,72-1,02)

Antimicrobiano	S basado en CBP		R basado en CBP		Concordancia (coeficiente K)
	ARG -	ARG +	ARG -	ARG +	
Florfenicol	166	1	0	2	0,79 (95 % CI: 0,65-0,95)
Enrofloxaco	140	12	2	15	0,64 (95 % CI: 0,49-0,78)

APP *Tabla 1. Correlación fenotipo/genotipo en APP. El verde indica buena correlación. ARG: genes de resistencia. WT: wild-type. NWT: non-wild-type. S: sensible. R: resistente. Se han tenido en cuenta mutaciones puntuales para este antibiótico.*

Fig. 2. Distribución de CMIs de los aislados de APP. Los ECOFFs se muestran en azul y los CBP en rojo.

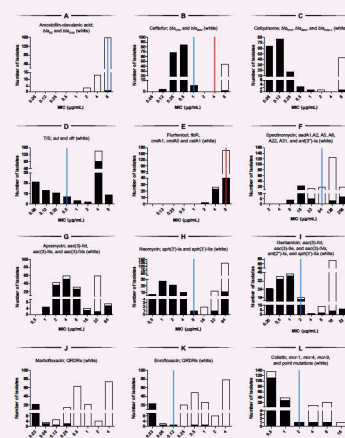


Antimicrobiano	WT basado en ECOFF		NWT basado en ECOFF		Concordancia (coeficiente K)
	ARG -	ARG +	ARG -	ARG +	
Colistina	142	32	2	30	0,55 (95 % CI: 0,42-0,67)
Ceftiofur	162	0	1	43	0,99 (95 % CI: 0,85-1,12)
T/S	51	1	97	57	0,22 (95 % CI: 0,13-0,31)
Enrofloxaco	23	3	2	178	0,89 (95 % CI: 0,75-1,03)
Gentamicina	109	7	12	78	0,87 (95 % CI: 0,68-0,95)
Neomicina	66	0	12	128	0,97 (95 % CI: 0,74-1,01)
Especinomicina	33	28	10	135	0,52 (95 % CI: 0,38-0,65)

Antimicrobiano	S basado en CBP		R basado en CBP		Concordancia (coeficiente K)
	ARG -	ARG +	ARG -	ARG +	
Ceftiofur	162	0	1	43	0,99 (95 % CI: 0,85-1,12)

EC *Tabla 2. Correlación fenotipo/genotipo en EC. El verde indica buena correlación. ARG: genes de resistencia. WT: wild-type. NWT: non-wild-type. S: sensible. R: resistente.*

Fig. 3. Distribución de CMIs de los aislados de EC. Los ECOFFs se muestran en azul y los CBP en rojo.



Conclusiones

La secuenciación identificó los determinantes de resistencia en nuestros aislados, y mostró una buena asociación con los perfiles de sensibilidad fenotípicos, especialmente en **APP Y EC**.

Sin embargo, dado que las bases de datos de genes de resistencia requieren actualizaciones constantes, **el método de microdilución sigue siendo el más robusto para predecir el éxito terapéutico.**



GSP Lleida: micro@gsp lleida.net

Anna Vilaró cuenta con el apoyo del Pla de Doctorats Industrials de la Secretaria d'Universitat i Recerca del Departament d'Empresa i coneixement de la Generalitat de Catalunya (beca 2021 D1 B6).

Este estudio se realizó con el apoyo del Grupo de Saneamiento Porcino, Lleida (GSP) y la ayuda de los veterinarios clínicos.

