

Variabilidad genética, resistencia antimicrobiana y estrategias de prevención en *Streptococcus suis* invasivos aislados en España: desafíos emergentes



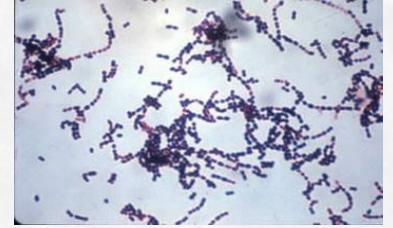
Jesús Arenas

Unidad de Microbiología, virología e Inmunología
Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza
jaarenas@unizar.es; jarenasbusto@gmail.com

1. **Introducción a *S. suis***
2. **Genética de *S. suis* invasivos en España**
3. **Resistencia de *S. suis* a antibióticos**
4. **Prevención contra la enfermedad**



Streptococcus suis



- **Bacteria Gram positivo:** Firmicutes, Clase Bacilli, Familia Streptococcaceae
- **Nicho ecológico:** tracto respiratorio, genital, e intestinal de diversos animales.

Vías de transmisión

- Nasal
- Vaginal-Nasal
- Oral-Fecal



Enfermedad estreptocócica porcina

Causa: Septicemia, artritis, endocarditis, neumonía, meningitis y/o muerte súbita

Signos: Fiebre, depresión, falta de coordinación, falta de fuerza en las extremidades posteriores, pedaleo, convulsiones, espasmos en los músculos traseros.

Incidencia (estimada): 80 % de las unidades de producción afectadas clínicamente.

Mortalidad: 1 – 5%, en ocasiones alcanza el 20% (dependiendo de la granja).

Impacto económico: > 150 millones de euros/año (Europa)



Neila et al, 2022. *Front Vet Sci.*

S. suis en humanos

Estudios analizando la presencia de *S. suis* en humanos

Study (reference)	Technique employed/target	Risk groups	Positive carriage or exposure (positive/tested)	Serotypes found
New Zealand, 1989 ²³⁵	Indirect ELISA/serotype 2 whole bacteria	Serological		
		Pig farmers	15/70 (21.4%)	—
		Meat inspectors	11/107 (10.3%)	
Netherlands, 1999 ²³⁶	Western blot/serotype 2 MRP/EF	Dairy farmers	9/96 (9.4%)	
		Veterinarians	MRP: 6/100 (6.0%) EF: 2/100 (2.0%)	—
		Pig farmers	MRP: 2/190 (1.1%) EF: 1/190 (0.5%)	
United States, 2008 ²³⁷	Indirect ELISA/serotype 2 whole bacteria	Pig workers	7/73 (9.6%)	—
Upper respiratory tract colonization (isolation)				
Italy, 1989 ²³⁸	Tonsil swabs	Slaughterhouse workers	2/10 (20%)	2
Mexico, 2001 ²³³	Tonsil swabs	Slaughterhouse workers	4/69 (5.8%)	2, 27, NT ^a
Germany, 2002 ¹⁸¹	Pharyngeal swabs	Slaughtering and meat processing workers	7/132 (5.3%)	2

Goyette-Desjardins et al, 2014

- 3ª causa de meningitis en Vietnam y Hong Kong
- 2013: 1642 casos / mundial
- Europa: 0,161-4,9 casos/100,000 Brizuela et al, 2024. *Emerg Infect Dis*.



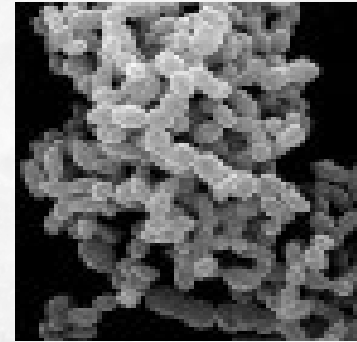
Diversidad y distribución de *S. suis*

Serotipos: 29 (capsula).

Factores de virulencia: suilysina, MRP, EF, enolasa

Secuencias tipo (ST): MLST, rMLST, cgMLST

4500 STs en la base de datos MLST de *S. suis*



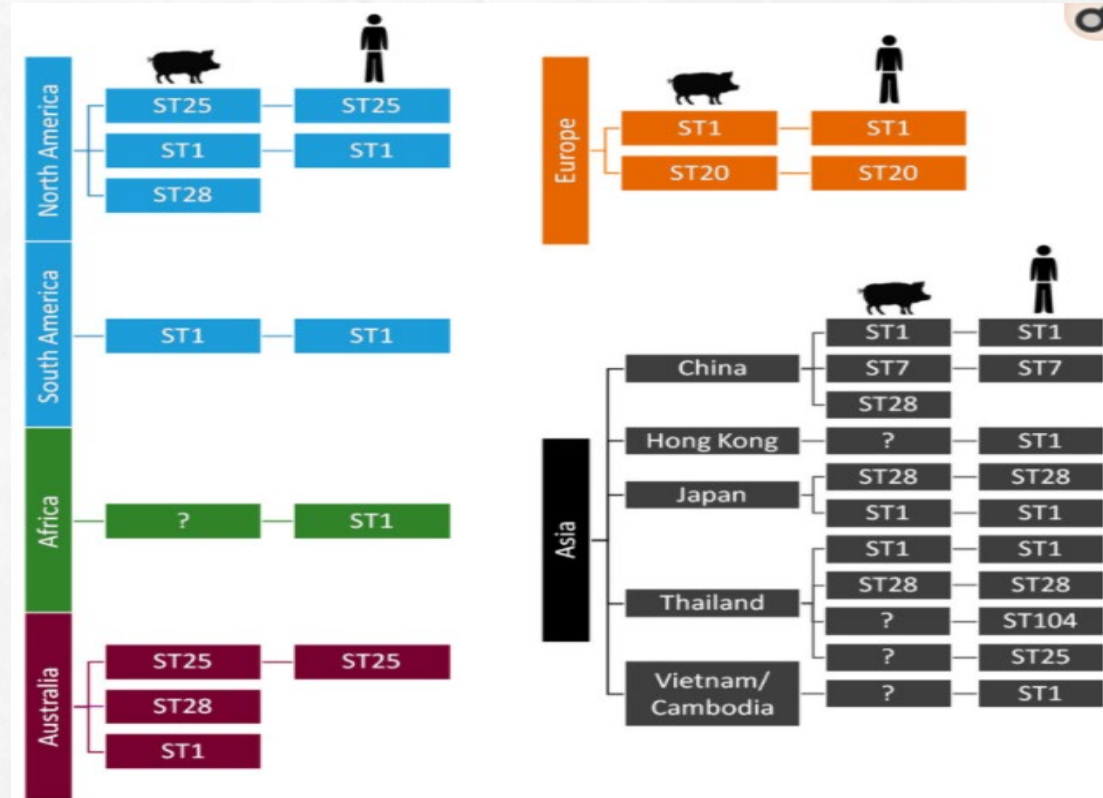
Análisis de cepas invasivas aisladas de cerdos enfermos

Country	Clinical cases	Predominant serotypes ^a (frequency in %)		
Worldwide	4711	2 (27.9%)	9 (19.4%)	3 (15.9%)
North America	3162 (67.1%)	2 (24.3%)	3 (21.0%)	1/2 (13.0%)
Canada	3 065	2	3	1/2
United States	97	3	2	7
South America	125 (2.7%)	2 (57.6%)	1/2 (9.6%)	14 (8.8%)
Brazil	125	2	1/2	14
Asia	659 (14.0%)	2 (44.2%)	3 (12.4%)	4 (5.6%)
Mainland China	639	2	3	4
South Korea	20	3	4	2, 8, 22
Europe	765 (16.2%)	9 (61.0%)	2 (18.4%)	7 (6.7%)
Netherlands	99	9	2	7
Spain	666	9	2	7

Goyette-Desjardins et al, 2014

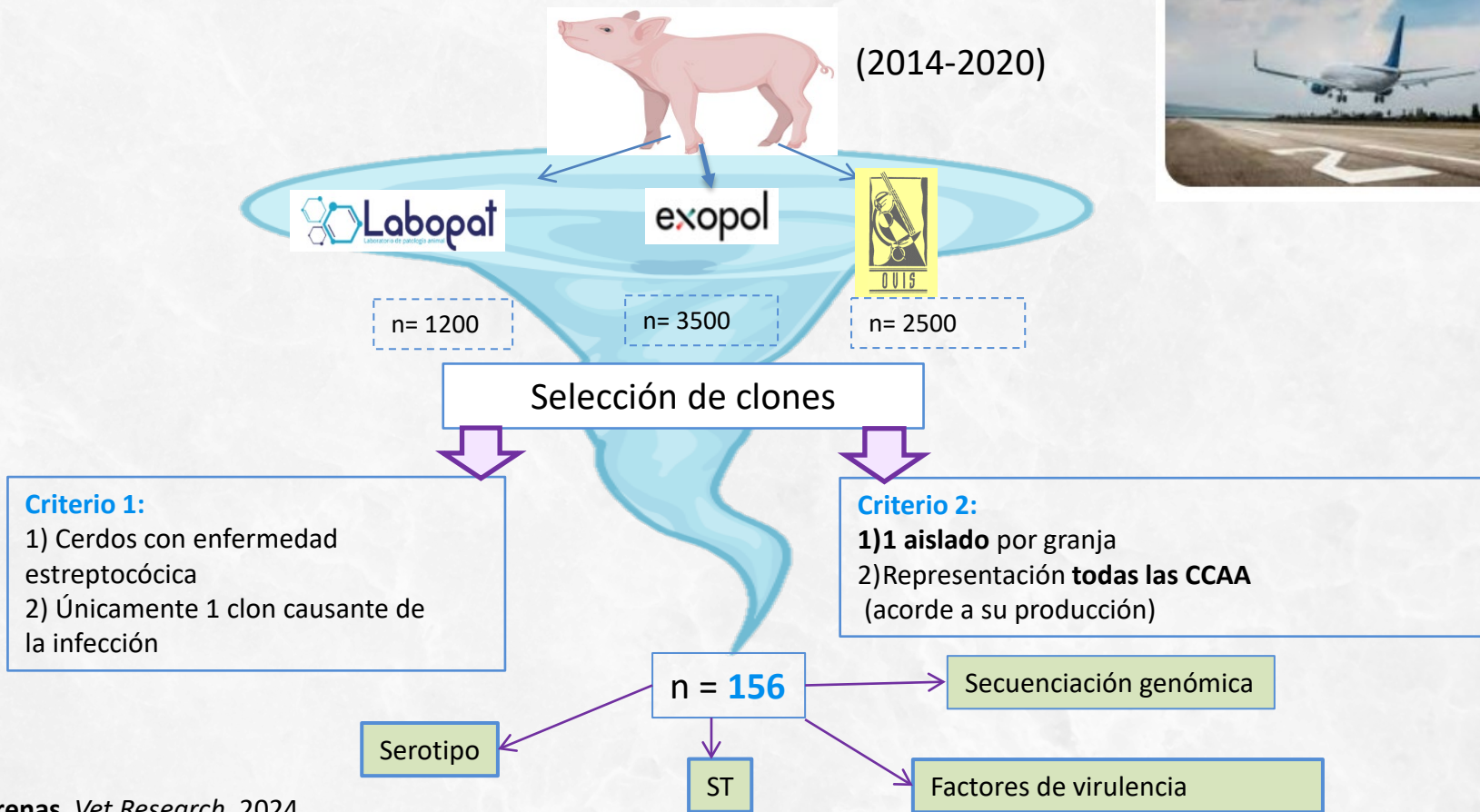
La predominancia de los serotipos varía dependiendo del país

Secuencias Tipo

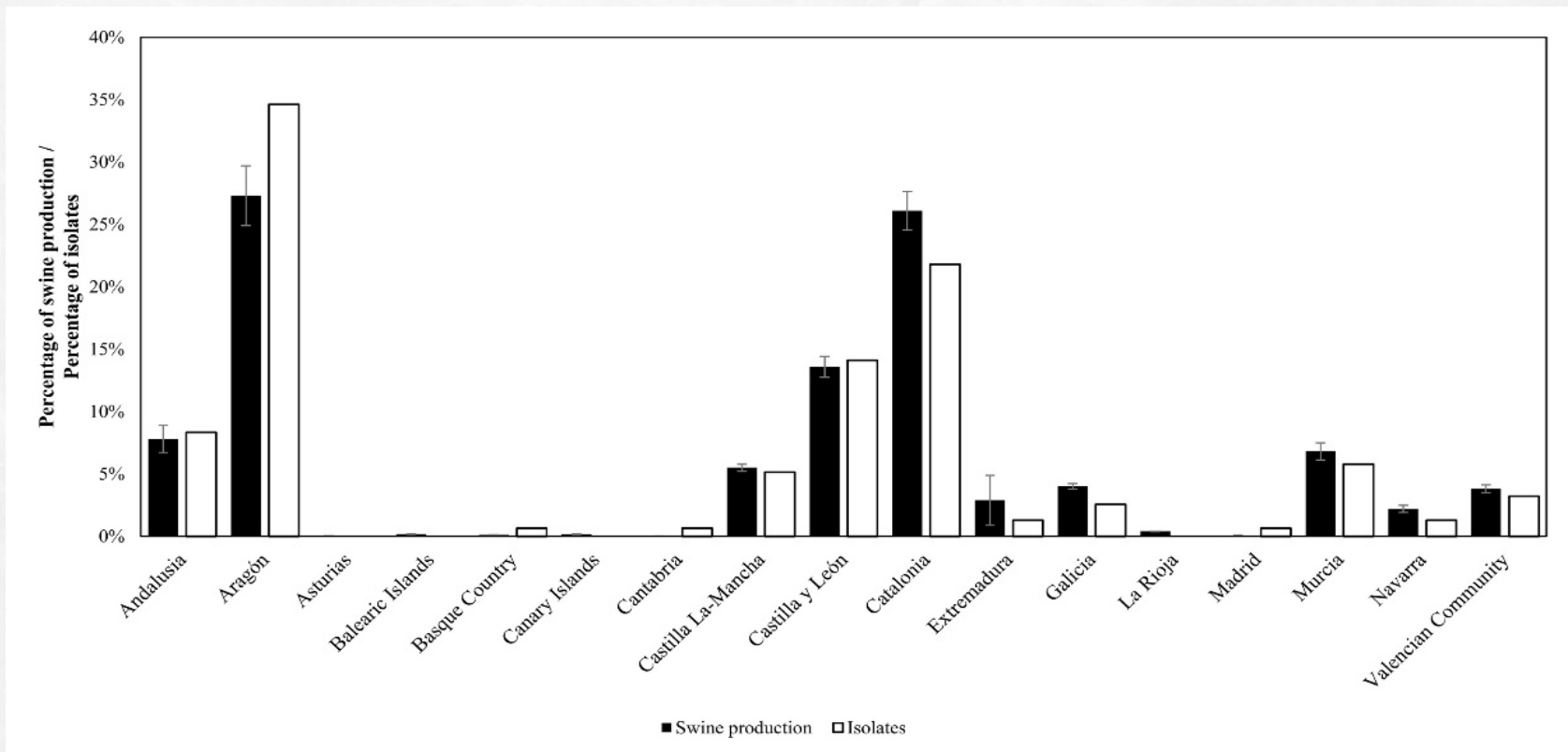


Diversidad y distribución de *S. suis*: España

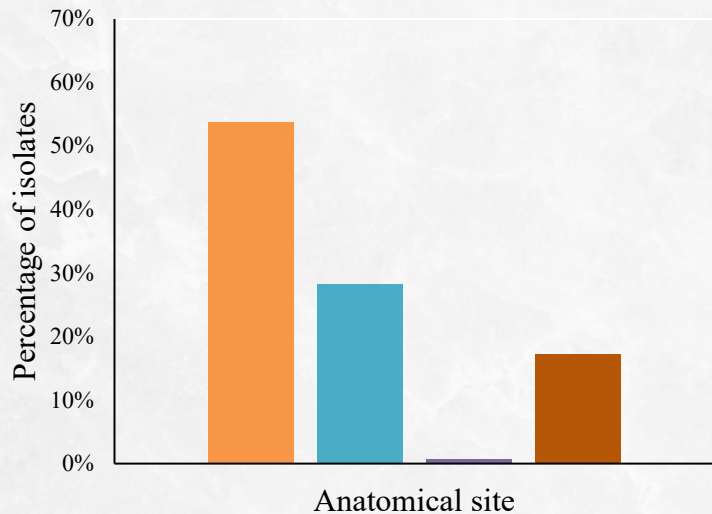
- Prieto et al, 1993. ► serotipo 2 (53,8%), serotipo 1 (9,2%), serotipo ½ (7,7%) y serotipo 8 (4,6%), n= 65 aislados (Cataluña, 10 Castilla, 8 Murcia, 15 Navarra-Aragón)
- Vela et al, 2003. ► serotipo 9 (64%), serotipo 2 (15%)
n = 302 aislados (origen indefinido)
- Luque et al, 2010. ► serotipo 4 (21%), serotipo 20 (15%), serotipo 25 (19%), serotipo 1/14 (8,6%), serotipo 2 (9,4%), serotipo 9 (7%)
n = 127 aislados (origen indefinido)
- Petrocchi-Rilo et al., 2021 ► serotipo 2 (21%), serotipo 1 (21%), serotipo 9 (19%), serotipo 3 (6,3%), serotipo 7 (3%), serotipo 4 (7%), n = 207 aislados (origen indefinido)



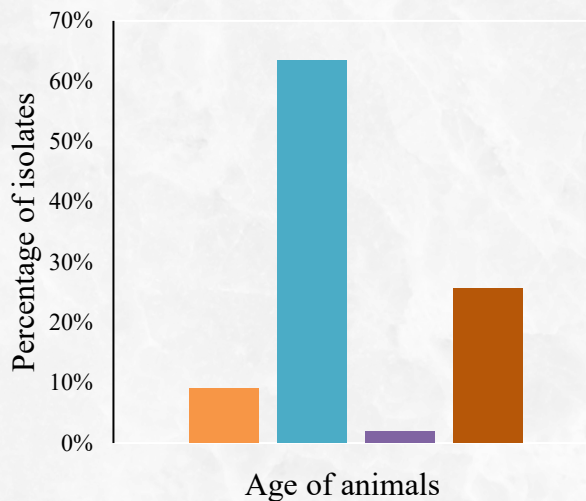
Características de los aislados



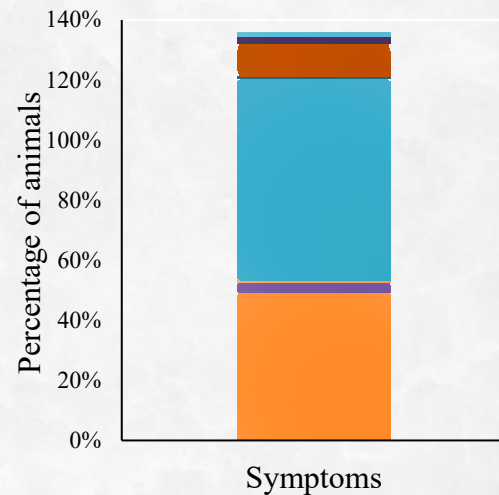
Origen anatómico



Edad de los animales



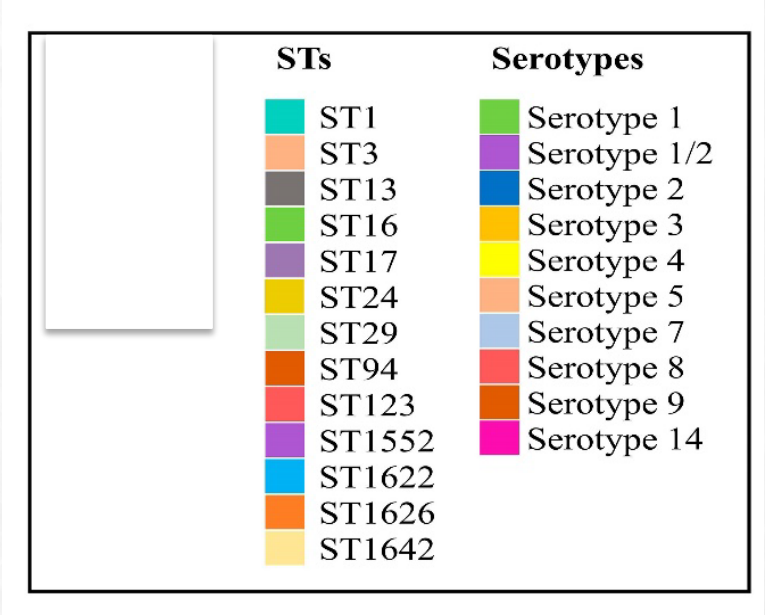
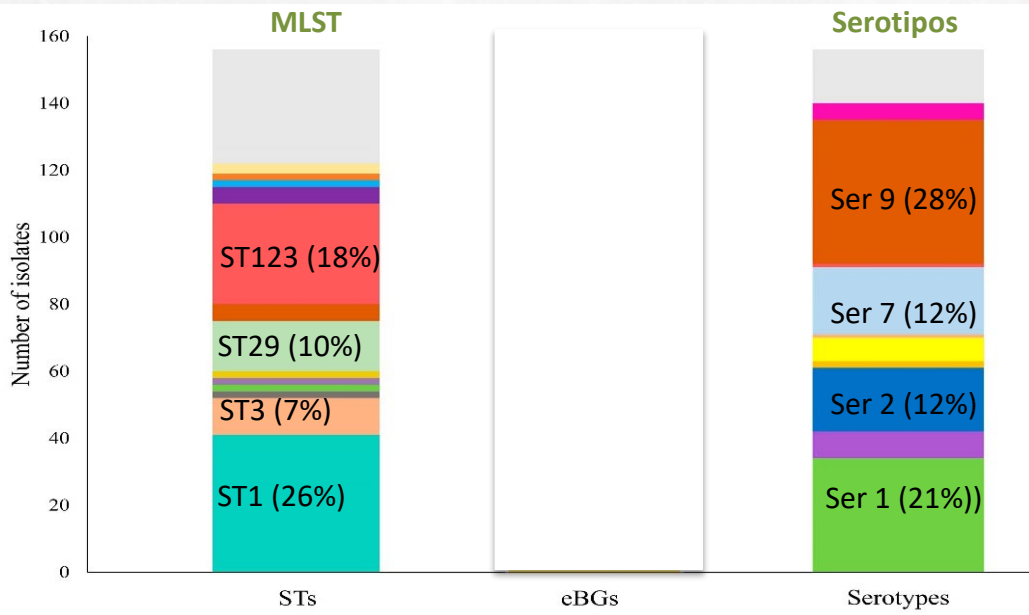
Enfermedad

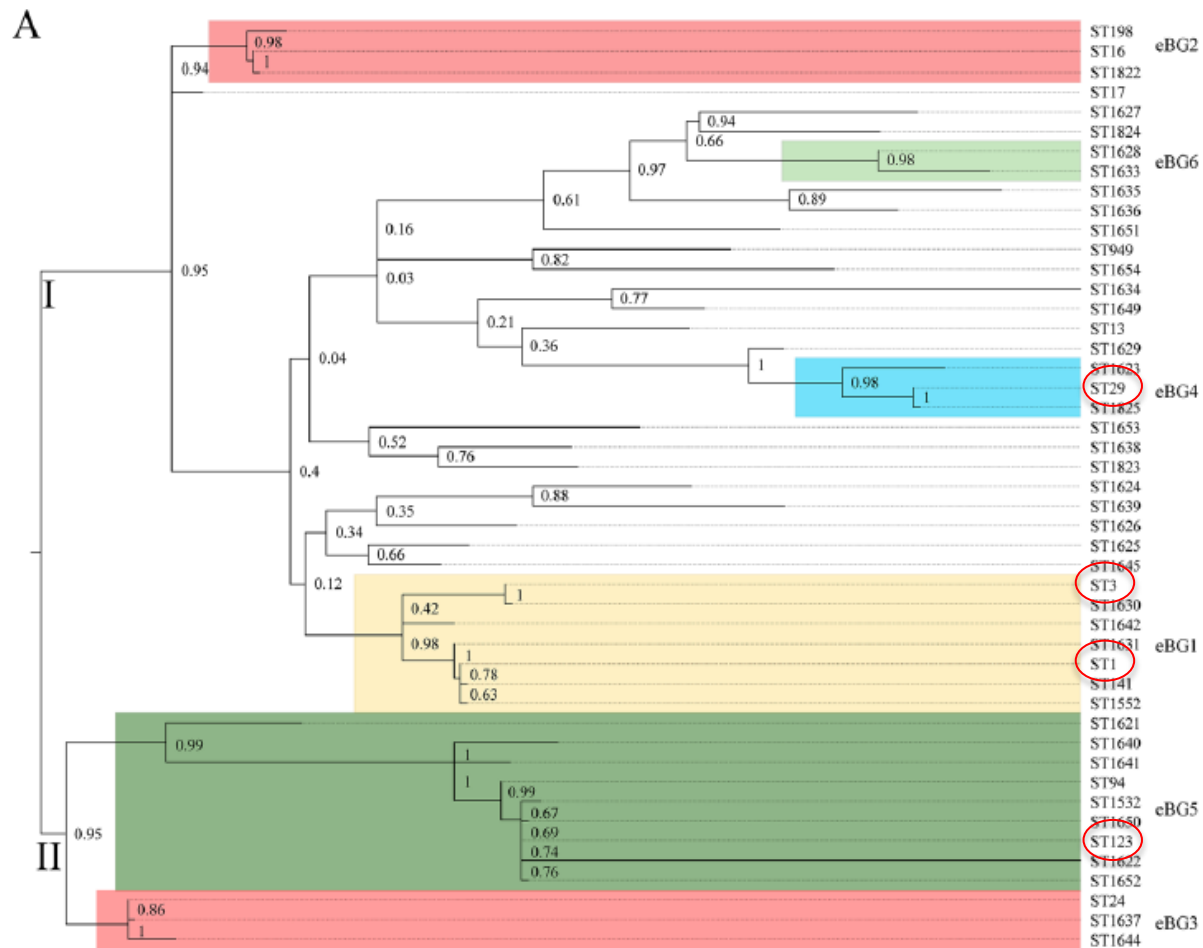


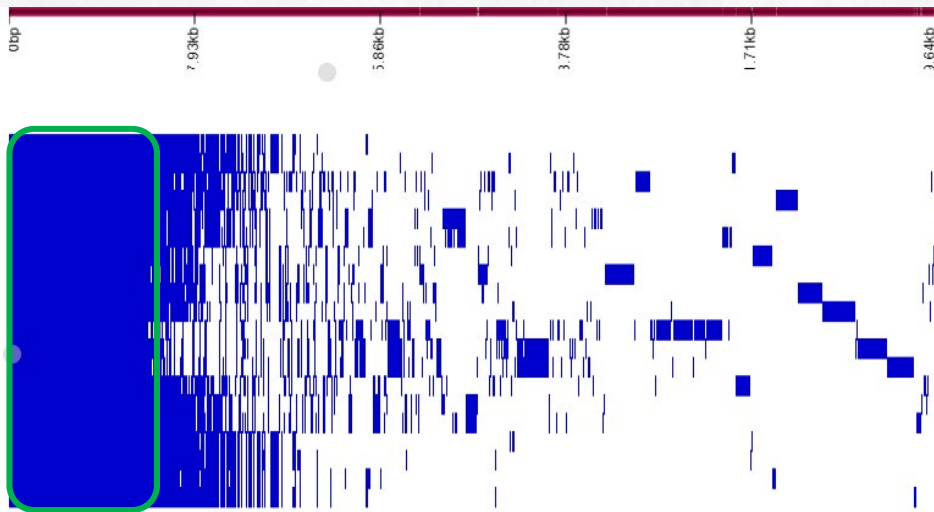
■ CNS
 ■ Joint
 ■ Turbinate
 ■ ND

■ Suckling piglets
 ■ Transition pigs
 ■ Fattening pigs
 ■ ND

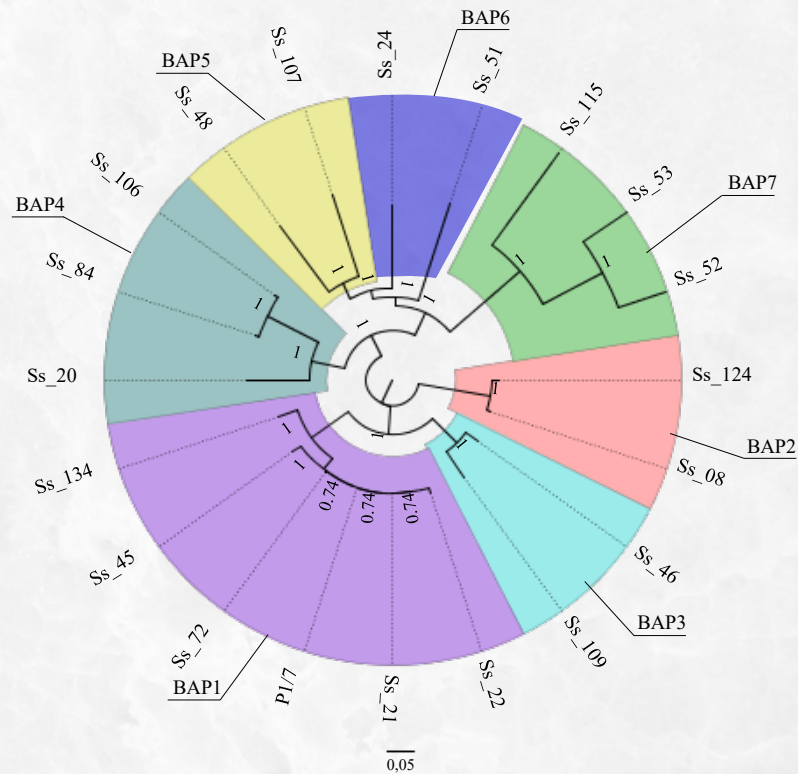
■ Arthritis
 ■ Septicaemia
 ■ Nervous symptoms
 ■ Pericarditis
 ■ Pneumonia
 ■ Unknown



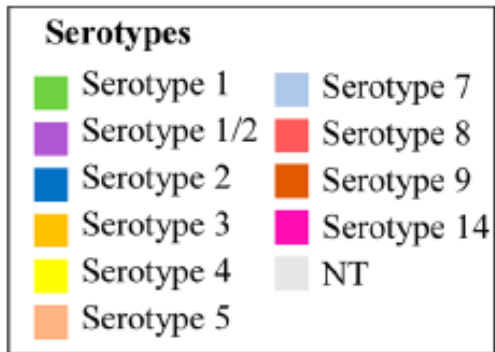
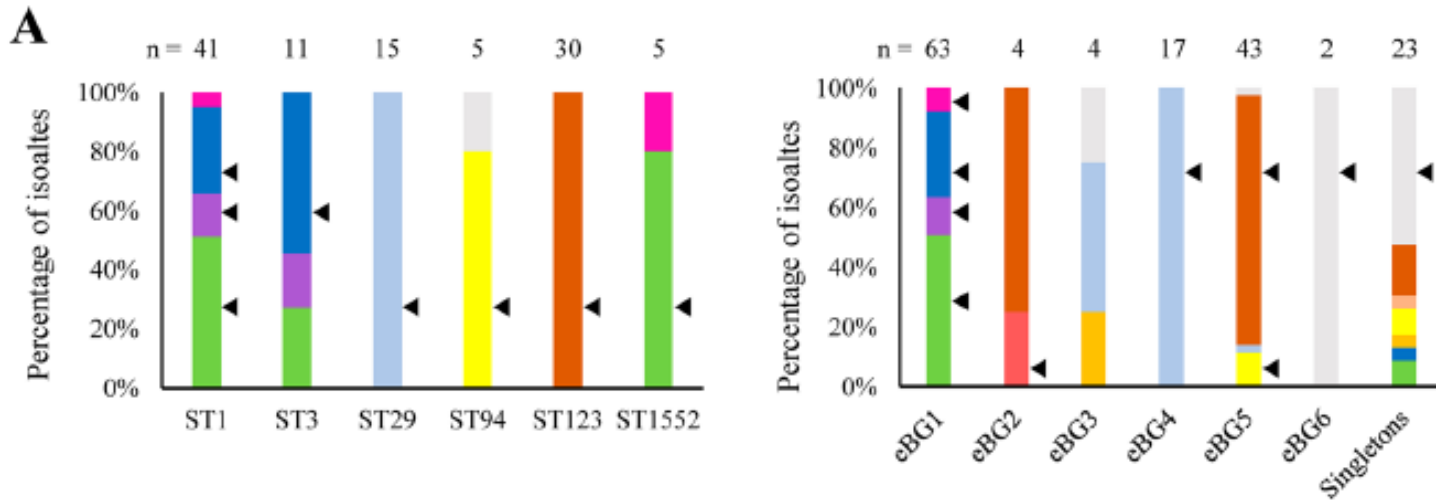




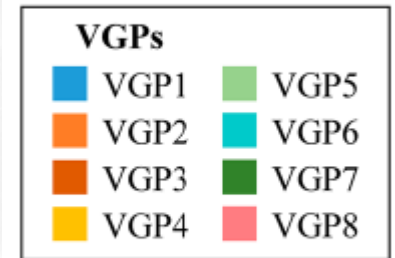
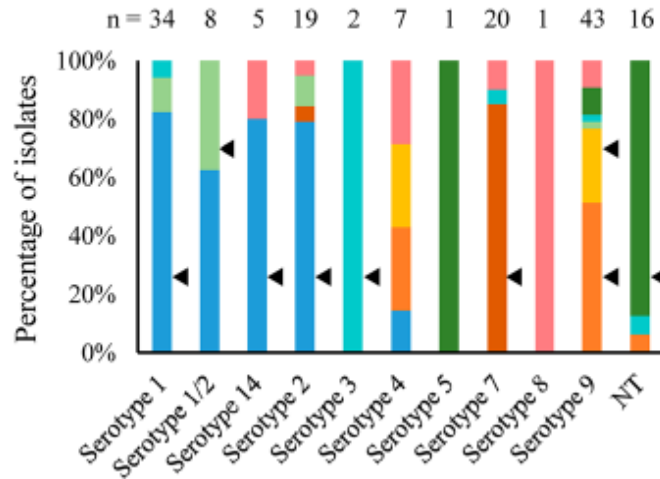
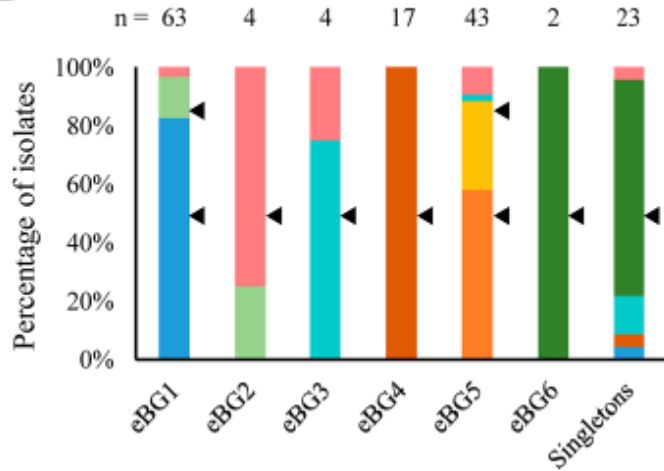
El 41-54% de los genes encontrados corresponden a los del **core**



Relaciones entre los grupos filogenéticos y serotipos



B



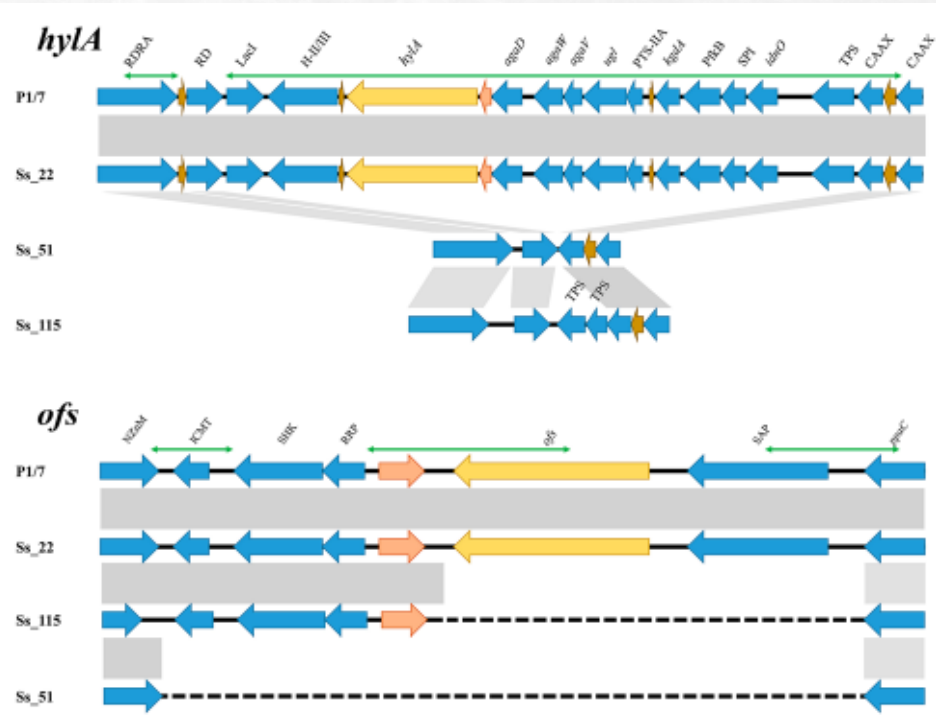
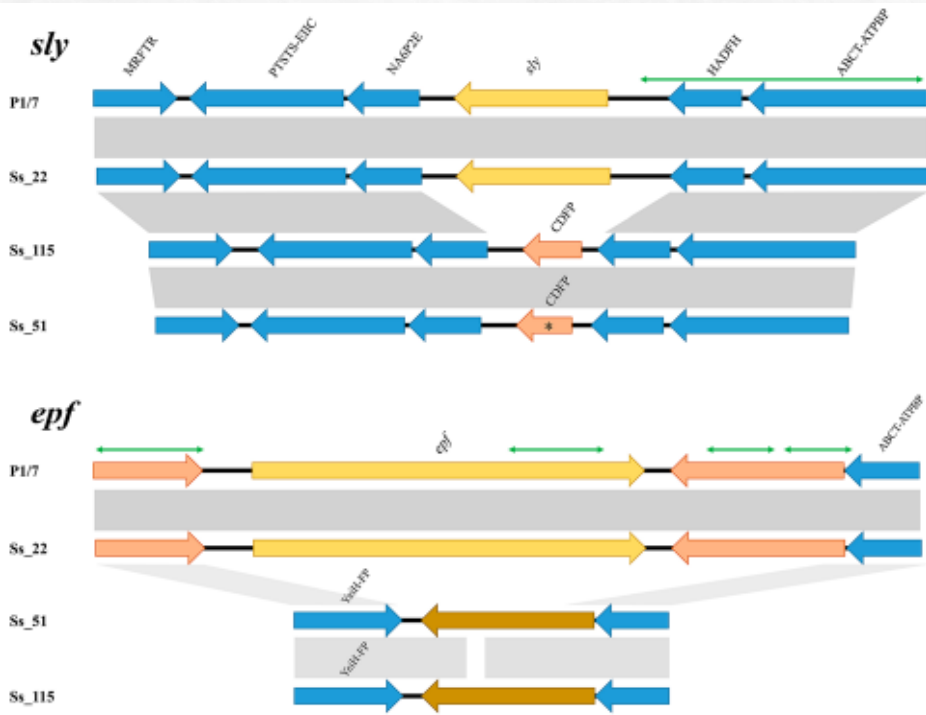
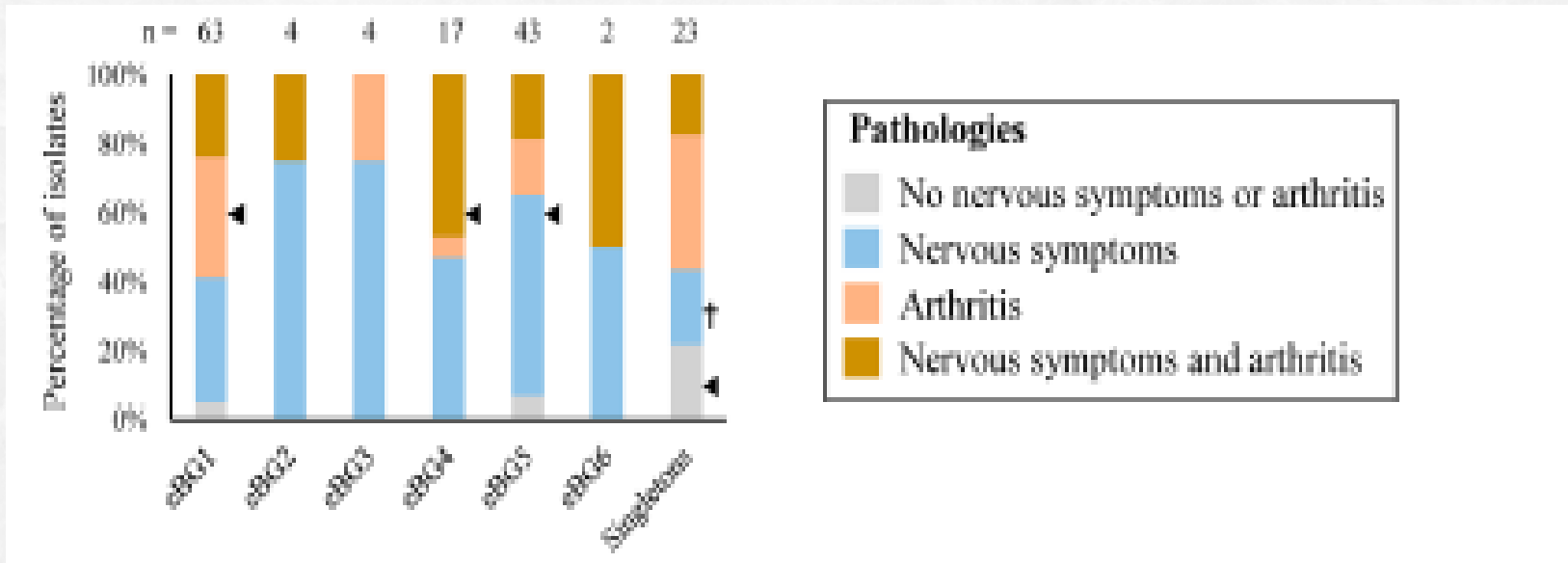


Table 2 Estimated selection pressures for the studied VGs in 19 *S. suis* isolates.

Gene	Estimated dN/dS	Number of codon sites with significant selection pressure
<i>epf</i>	0.33 (0.27–0.40)	–
<i>sly</i>	0.05 (0.00–0.25)	–
<i>mrp</i>	0.33 (0.30–0.37)	9 NSSs
<i>hylA</i>	0.49 (0.40–0.60)	1 NSSs
<i>htpsC</i>	0.32 (0.22–0.46)	2 NSSs
<i>zmp</i>	0.24 (0.23–0.26)	64 NSSs
<i>ofs</i>	2.35 (2.17–2.54)	1 NSSs
<i>sbp2</i>	–	–
<i>strF</i>	0.33 (0.08–0.87)	–
<i>sspA</i>	0.82 (0.73–0.92)	12 NSSs
SSU1773	0.24 (0.22–0.27)	50 NSSs
<i>apuA</i>	0.10 (0.09–0.12)	130 NSSs
<i>dppIV</i>	0.15 (0.13–0.17)	52 NSSs

The table shows the estimated global dN/dS (including the 95% confidence interval) and the number of negatively selected codon sites (NSSs) at a significance level of 0.05. Positively selected sites at that significance level were not found. The gene *sbp2* was totally conserved.

Relaciones entre los grupos genéticos y signos de infección



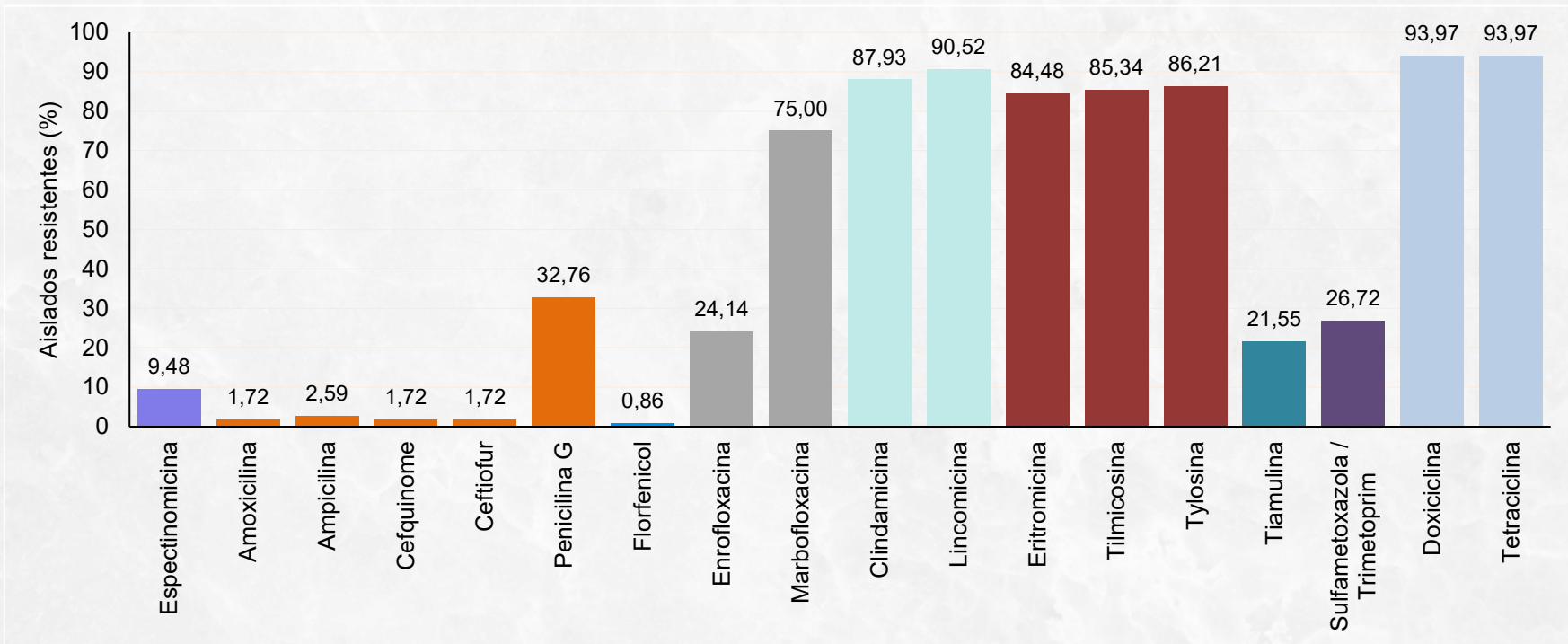
S. suis invasivos aislados en España se agrupa en tres grupos filogenéticos distanciados genéticamente: ST1-ST3, ST123, ST29

Cada grupo filogenético produce diferentes factores de virulencia

Detectamos evidencias de intercambio genético en factores de virulencia, pero estos están altamente conservados

Cada grupo filogenético produce diferentes patologías

Resistencia a antimicrobianos en *S. suis*



90 % multirresistentes (29 patrones de multiresistencia)

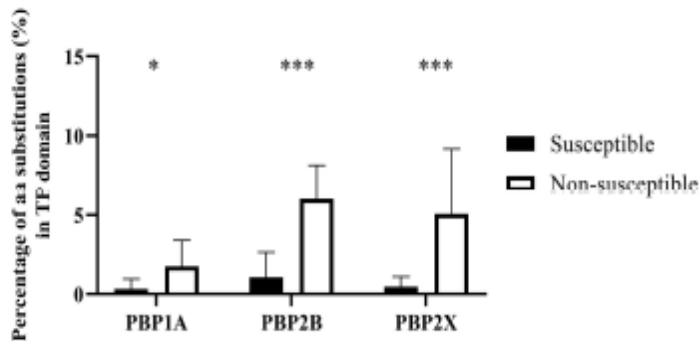
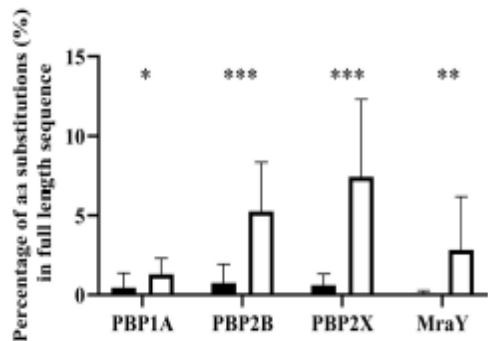
Genes de resistencia a antibióticos

Tetraciclinas	Macrólidos	Lincosamidas	Fluoroquinolonas	Aminoglucósidos	Anfenicoles	TMP	Pleuromutilinas	Penicilinas
<i>tet(O)*</i>	<i>ermB*</i>	<i>linB</i>	<i>gyrA</i>	<i>ant1</i>	<i>optrA *</i>	<i>dhfr</i>	<i>lsaE</i>	<i>Pbp1a*</i>
<i>tet(M)</i>	<i>mefA/E</i>	<i>lsaE</i>	<i>parC</i>	<i>Sat4</i>	<i>cfr</i>		<i>vgaF</i>	<i>Pbp2b*</i>
<i>tet(W)</i>	<i>msrD</i>	<i>ermB*</i>	<i>gyrB</i>	<i>aph(3')-IIIa*</i>	<i>fexA</i>			<i>Pbp2x*</i>
<i>tet(O/W/32/O)</i>	<i>mphB</i>	<i>optrA</i>	<i>parE</i>	<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i>				<i>mraY</i>
<i>tet(K)</i>	<i>cfr</i>	<i>vgaF</i>		<i>aacA*</i>				
<i>tet(L)</i>	<i>mphC</i>	<i>cfr</i>		<i>aadE #</i>				
<i>tet(40)</i>	<i>ermB(47)</i>			<i>ampA*</i>				
<i>tet(44)</i>				<i>ant9</i>				
<i>tet(T)</i>				<i>aph(2'')-IIIa</i>				
				<i>spw *</i>				

- * asociación significativa con resistentes (P < 0,05)
- # presencia significativa en sensibles

FORUM 25 Resistencia a beta-lactámicos

A



B

an substitution	MraY				PBP1A		PBP2B														PBP2X														
	T70A/V	F72L	L74M	V91L	T689A	A703S	P92S	K143E/D	N179S	S206A	I300V	R332K	I414V	Y432W	G433-	I452V/A	K479T	D512E	K513E	T515S	F72T	S450T	T551S/Q	I568T	N616S	R628Q/S	A630T/G	N631K/T/S	Q636K/T/R	Q655E/N/Y	A666S	K678A/N/V/L	I680A/P/L/S	I701L/V	
RR	4.3	4.3	4.3	4.3	4.2	12.1	7.1	7.1	7.1	13.8	12.1	12.1	ND	ND	ND	ND	4.8	13.8	ND	ND	ND	13.8	ND	4.8	7.7	8.2	11	21	11	21	7.7	ND	21	21	
%	45.4	45.4	45.4	45.4	81.8	90.9	81.8	81.8	81.8	90.9	90.9	90.9	100	100	100	100	72.7	90.9	100	100	100	90.9	100	72.7	72.7	81.8	81.8	90.9	81.8	90.9	72.7	100	90.9	90.9	
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.013	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Streptococcus suis isolate Ss_124
Conjugative region

Streptococcus suis isolate Ss_20
ICESsu_20

Streptococcus suis isolate Ss_115
ICESsu_115

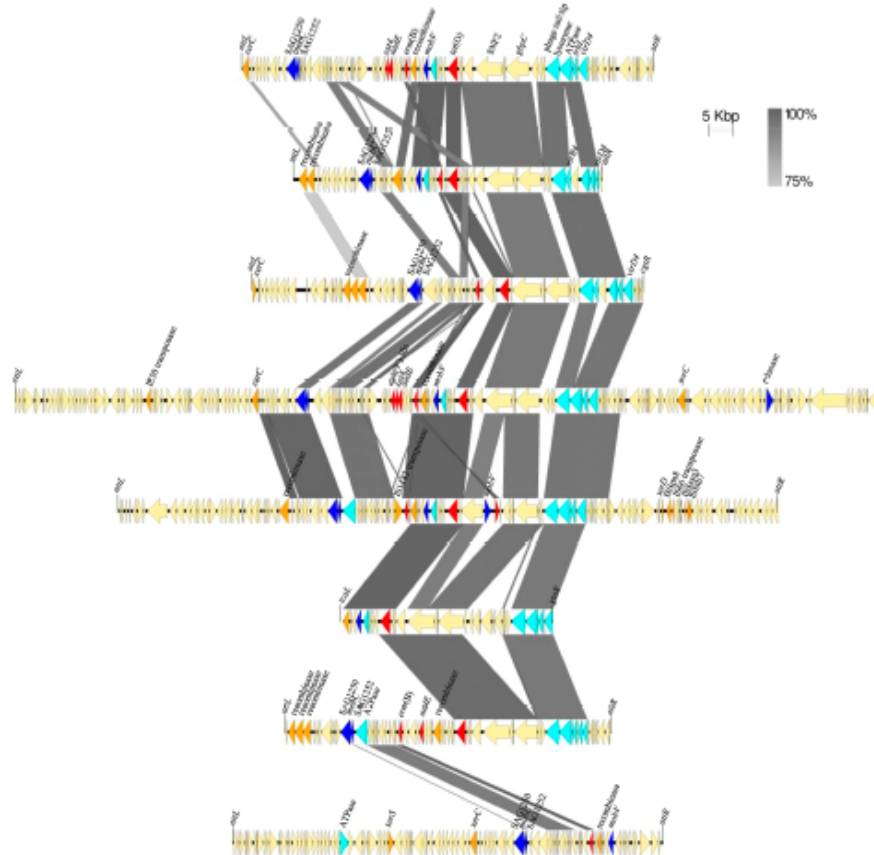
Streptococcus suis isolate Ss_08
ICESsu_08

Streptococcus suis isolate Ss_45
ICESsu_45

Streptococcus suis isolate Ss_106
ICESsu_106

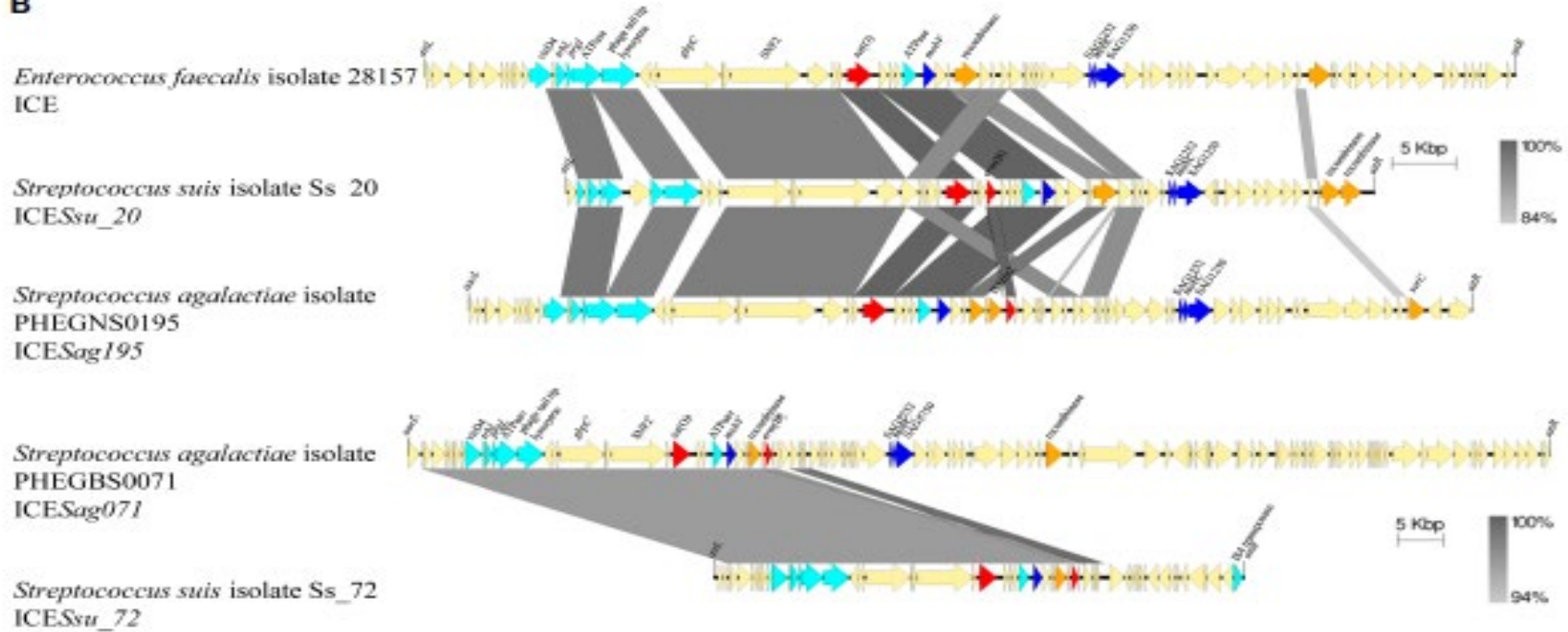
Streptococcus suis isolate Ss_134
ICESsu_134

Streptococcus suis isolate Ss_92
ICESsu_92



Localización de los genes de resistencia

B



***S. suis* ha desarrollado altas tasas de resistencia a diferentes antibióticos y utiliza una gran variedad de mecanismos.**

***S. suis* es capaz de recibir y transferir genes de resistencias a antibióticos con otras bacterias patógenas de humanos o animales.**

Hemos desarrollado técnicas para identificar todos los GRAs de *S. suis*.

Estamos desarrollando técnicas rápidas para identificar la resistencia a betalactámicos.



Sistemas de prevención: Estudio de extractos naturales

Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of EO against eight *N. gonorrhoeae* and seven *S. suis* strains. Data represent the average and the range obtained of all isolates of *N. gonorrhoeae* and *S. suis*, respectively. Included are values for the reference *N. gonorrhoeae* strain FA1090 and *S. suis* strain P1/7. The MIC and MBC values are expressed in mg/mL.

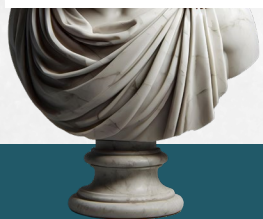
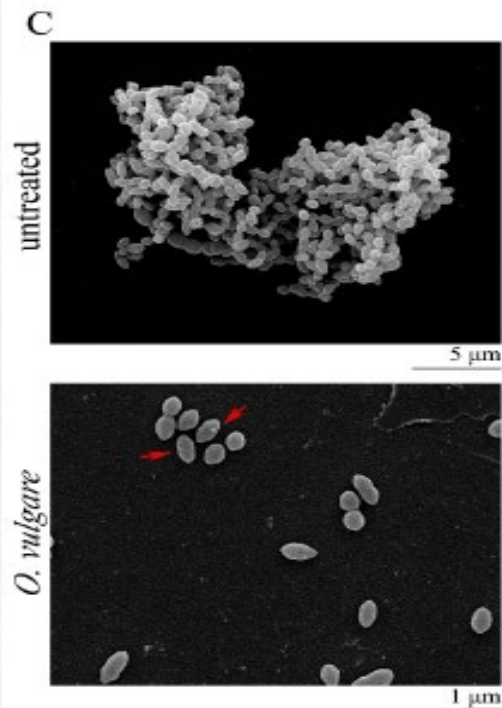
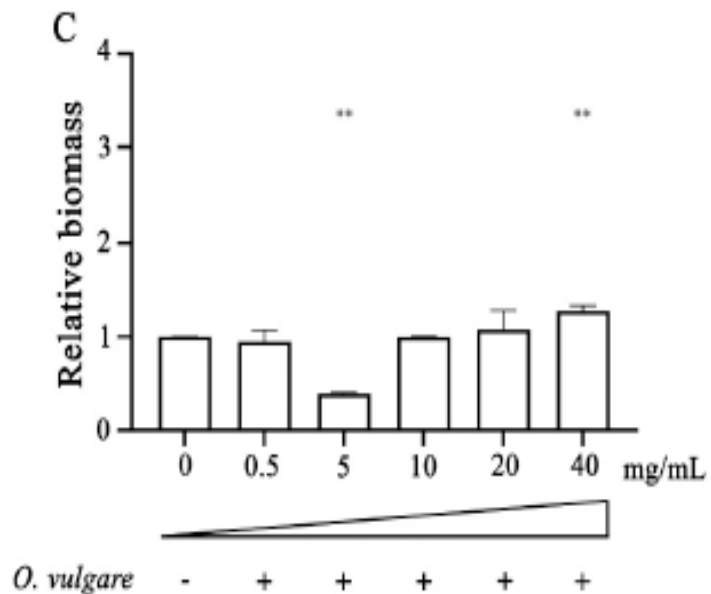
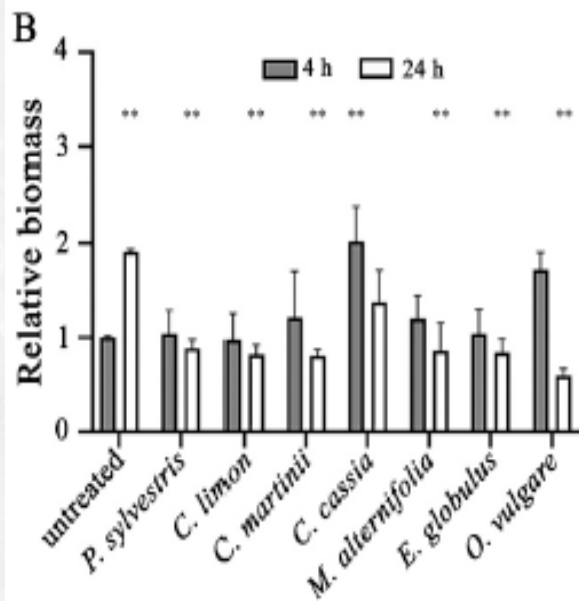
Essential Oil	<i>N. gonorrhoeae</i>			<i>S. suis</i>		
	MIC _(n=8) ^a	MIC _{FA1090}	MBC _{FA1090}	MIC _(n=6) ^a	MIC _{P1/7}	MBC _{P1/7}
<i>P. sylvestris</i>	0.3 (1-0.06)	1	1	2 (4-0.12)	2	4
<i>C. limon</i>	0.45 (0.5-0.06)	0.5	0.5	12 (16-8)	10	20
<i>C. martinii</i>	0.7 (2-0.06)	2	2	0.5 (0.25-1)	1	2
<i>C. cassia</i>	0.2 (1-0.06)	0.5	0.5	0.5 (1-0.25)	0.5	0.5
<i>M. alternifolia</i>	0.9 (1-0.2)	1	2	1.4 (4-0.12)	5	10
<i>E. globulus</i>	2.4 (8-0.5)	8	11	4 (8-2)	10	10
<i>O. vulgare</i>	0.12 (1-0.12)	0.12	0.12	0.3 (1-0.12)	0.5	0.5

^a MICs values for each strain are listed in [Table S3](#).



Jurado, ..., Arenas. 2023
Biomedicine & Pharmacotherapy. Factor Impacto: 7,6

Sistemas de prevención: Estudio de extractos naturales



Jurado, ..., Arenas. 2023
Biomedicine & Pharmacotherapy. Factor Impact: 7,6

Agradecimientos



Cristina Uruén
Paula Jurado
Carla García
Camila Bosh
Luis Saralegui
Jorge Gimeno

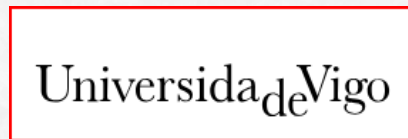
Prof. Marcelo Gottschalk
Prof. Lorenzo Fraile



Dr. Clara Marín
Dr. Pilar de Bogues
Dr. Jorge Hugo



Dr. Antonio Rezusta
Maria Jose Lavilla



Prof. Miguel Arenas
Luís González



Ana Fernández
José Luis Arnal
Mateo del Pozo
María Casas Amoribieta

Agradecimientos

Proyecto: Multistrepts. 2020-2022, UNIZAR

Proyecto: ABC-VaccineSs. 2021-2025, Agencia Estatal de Investigación

Proyecto LEI: 2021-2023, ia2.

Proyecto: TRANSIT. 2021-2023. Dirección General de Aragón

Proyecto: Resistencia de *S. suis*.2022-2023. Diputación General de Huesca

Proyecto: StrepVac. 2024-2028, Agencia Estatal de Investigación



Nutrika
improving animal nutrition