

CAM-ALAM 2016 – 26-30/09 ROSARIO, STA FE

MI-0504

Estudio de una sospecha de brote de *Shigella sonnei* por técnicas microbiológicas convencionales y análisis de genoma completo

J Campos, I Chinen, C Carbonari, B D'Astek, N Deza, A Della Gaspera, D Napoli, M Moroni, S Brengi, M Panagópulo, MR Viñas, MI Caffer, M Rapoport, A Corso, M Holden, S Baker, N Thomson, MF Galas, M Rivas

La diarrea disintérica causada por el género *Shigella* es un problema de salud pública a nivel mundial, con una prevalencia estimada de ~125 millones de casos anuales. Las especies, *S. flexneri* y *S. sonnei* son responsables de la mayoría de carga de enfermedad mundial. En Argentina, en el año 2014, de un total de 6200 casos positivos de diarrea bacteriana, 4116 correspondieron al género *Shigella*, y el de estos el 22% fueron identificados como *S. sonnei*. El objetivo de este estudio fue caracterizar y determinar la relación genética de los aislamientos asociados a una sospecha de brote de diarrea, mediante técnicas convencionales y a través de la secuenciación de genoma completo (SGC).

El 13-04-16 se recibieron 10 muestras de materia fecal y se comenzó su procesamiento. Se obtuvieron 8 aislamientos positivos, identificados como *S. sonnei* mediante pruebas bioquímicas, serotipificación y PCR-ipaH. Se determinó el perfil de sensibilidad por el método de difusión según CLSI-M100-S26 y la diversidad genética por electroforesis en campo pulsado (PFGE), siguiendo los protocolos de la Red PulseNet utilizando las enzimas XbaI y BlnI.

Los resultados de las técnicas fenotípicas convencionales se completaron el día 20-04-16. El día 15-04-16 se realizó la SGC de los aislamientos con la plataforma Miseq (Illumina) usando la química V2. Las lecturas obtenidas fueron mapeadas contra referencia utilizando Smalt y Samtools. Se identificaron los SNPs y se realizó el análisis filogenético con RAxML. Se realizó la pseudomolécula con el ensamblado utilizando el paquete Velvet y los resultados se completaron el 18-04, incluyendo los genes de resistencia asociados con SRST2 y la base ARGannot.

Con el análisis de la SGC se pudieron diferenciar dos resistomas diferentes que tuvieron concordancia con el análisis filogenético. Siete de los aislamientos que se agrupaban en un mismo cluster, presentaban los genes tetAR, strAB, y sul2 y se asoció al plásmido spA contenido en el linaje global 3 de *S. sonnei* confiriéndole resistencia a tetraciclina, estreptomicina y sulfonamidas. La expresión de estos genes de resistencia se confirmó por la técnica tradicional. El otro aislamiento presentó un origen clonal diferente y en su resistoma se encontró la betalactamasa OXA-1 y el gen CAT-1, presentando también resistencia fenotípica ampicilina y cloranfenicol. Los dos clusters también se pudieron diferenciar por PFGE.

El uso de SGC permitió obtener resultados en menor tiempo al ser realizada en paralelo con técnicas convencionales, permitiendo la identificación de los aislamientos, la evaluación de la filogenia para poder identificar distintos orígenes clonales y su relación respecto al linaje global, así como evaluar los genes de resistencia a antimicrobianos y sus plataformas de transferencia horizontal. Todos los resultados obtenidos por SGC fueron 100% concordantes con las metodologías tradicionales para el análisis de este brote.