



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Detección de genes de virulencia y resistencia
antimicrobiana en *Shigella spp.* aisladas de niños sanos
y con diarrea del distrito de Independencia, Lima**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología

AUTOR

Angela María LLUQUE AQUINO

ASESORES

Amparo Iris ZAVALA PESANTES

Joaquim RUIZ BLÁZQUEZ

Lima, Perú

2011

RESUMEN

Shigella una de las principales causas de diarrea en niños; tiene habilidad para invadir y replicarse dentro del epitelio del colon, además es una de las bacterias con creciente resistencia a los antimicrobianos; para eso depende de una serie de factores entre ellos la presencia y expresión de genes de virulencia y de resistencia a los antimicrobianos.

El objetivo de la presente investigación fue detectar los principales genes implicados en virulencia y resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Shigella* spp., aisladas de niños sanos y con diarrea del Distrito de Independencia – Lima.

Se analizaron 20 y 65, cepas de *Shigella* spp. aisladas de niños sanos y niños con diarrea respectivamente. Las cepas se reactivaron en agar MacConkey, se extrajo el ADN mediante hervido y se amplificaron por PCR genes de virulencia y de resistencia antimicrobiana. Los genes de virulencia más frecuentes fueron *ipaH* (96%), *sen* (74%), *virA* (73%) e *icsA* (73%). El gen *sat* (64%) antes reportado en *E. coli* uropatógena; *shET1* (33%) y *sepA* (45%) exclusivos en *S. flexneri*, detectados en menor frecuencia. En cuanto a resistencia antimicrobiana, el 86% de cepas de *Shigella* spp. fueron resistentes a cotrimoxazol, 73% a tetraciclina, 69% a ampicilina y el 57% a cloranfenicol. El 100% de cepas de *S. sonnei* fueron resistentes a cotrimoxazol y a tetraciclina; mientras que el 92% fue resistente a ampicilina y a cloranfenicol. Los genes de resistencia más frecuentes fueron *sul2* (97%), *tet(B)* (89%), *blaOXA-1 like* (36%) y *cat* (87%), asociados con resistencia a sulfonamidas, tetraciclinas, ampicilina y cloranfenicol respectivamente. Se detectaron los genes *intl1* e *intl2* en el 48 y 46% de cepas, respectivamente. *intl1* se detectó en el 85% de cepas de *S. sonnei*, 56% de *S. flexneri* y 20% de *S. dysenteriae*; pero no amplificó en *S. boydii*. *intl2* se detectó en el 60% de cepas de *S. flexneri*, 40% de *S. boydii*, 20% de *S. dysenteriae* y 8% de *S. sonnei*. El 38% de cepas de *S. flexneri* amplificó para ambas integrasas.

Cepas de *Shigella* spp., portadoras de genes de virulencia y de resistencia antimicrobiana, son aisladas de niños sanos y con diarrea; su estudio permitirá establecer una vigilancia epidemiológica de este patógeno, a fin de evitar brotes de esta bacteria.

Palabras clave: diarrea, *Shigella*, shigellosis, virulencia, resistencia antimicrobiana, Ipa, enterotoxinas, autotransportadoras.

SUMMARY

Shigella, one of the major causes of diarrhea in children, has the ability to invade and replicate within the colonic epithelium, and is considered as one of the bacteria with growing development to antimicrobial resistance; due to several factors such as the presence and expression of virulence and antimicrobial resistance genes.

The aim of this study was to detect genes related to virulence and antimicrobial resistance in isolates of *Shigella* spp., from children with and without diarrhea from The district of Independencia in Lima.

20 and 65 *Shigella* spp. isolates from healthy and children with diarrhea respectively were analyzed. The strains were reactivated on MacConkey agar, DNA extraction and PCR for virulence and resistance genes were performed. The most frequently virulence genes were *ipaH* (96%), *sen* (74%), *virA* (73%) and *icsA* (73%). The *sat* gene (64%), previously reported for uropathogenic *E. coli*; *shET1* (33%), and *sepA* (45%) exclusive for *S. flexneri*, were less frequently. In regard to antimicrobial resistance, 86% of *Shigella* spp. were resistant to cotrimoxazole, 73% to tetracycline, 69% to ampicillin, and 57% to chloramphenicol. 100% of *S. sonnei* strains were resistant to cotrimoxazole, and tetracycline, while 92% were resistant to ampicillin, and chloramphenicol. The most frequently resistance genes were *sul2* (97%), *tet* (B) (89%), *blaOXA-1 like* (36%), *cat* (87%), related to sulfonamide, tetracycline, ampicillin, and chloramphenicol respectively. *int1* and *int2* genes were detected in 48 and 46%, respectively. *int1* gene was detected in 85% of *S. sonnei*, 56% of *S. flexneri*, and 20% of *S. dysenteriae* strains; no *S. boydii* presented this gene. *int2* gene was frequently in 60% of *S. flexneri* strains, 40% of *S. boydii*, 20% of *S. dysenteriae*, and 8% of *S. sonnei*. 38% of *S. flexneri* strains amplified for both integrases.

Shigella spp. strains, carriers of virulence and antimicrobial resistance genes, are isolated from healthy and diarrhea cases of children; this present study will let to set an epidemiological surveillance for this pathogen, in order to avoid epidemic outbreaks.

Keywords: diarrhea, *Shigella*, shigellosis, virulence, antimicrobial resistance, Ipa, enterotoxins, autotransporters