IAFP Latino 2024
Simpósio Latinoamericano em Segurança dos Alimentos
Santos - SP - Brasil
11 a 14 Nov, 2024

Caracterización de cepas de Cronobacter aisladas de leches en polvo y ambiente utilizando secuenciación de genoma completo

Julio Parra-Flores[1], Sergio Acuña Nelson[2], Miriam Troncoso Herrera[3], Guillermo Figueroa Gronemeyer[3], Beatriz Daza Prieto[4], Werner Ruppitsch[4]

[1.] Universidad del Bío-Bío, Departamento de Nutrición y Salud Pública, Chillán, Chile
[2.] Universidad del Bío-Bío, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Chillán, Chile
[3.] Universidad de Chile, INTA, Santiago, Chile
[4.] Austrian Agency for Health and Food Safety, Institute for Medical Microbiology and Hygiene, Vienna, Austria

Cronobacter spp. es un género patógeno compuesto por 7 especies, siendo *C. sakazakii* la de mayor significancia clínica asociada con brotes en fórmula infantil en polvo (FIP) y, en menor medida, *C. malonaticus* en adultos. En 2022, en EE. UU., se emitió una alerta alimentaria por *C. sakazakii* en FIP que produjo 4 casos y 2 muertes, provocando un retiro de FIP del comercio. La gravedad de la infección por *C. sakazakii* se relaciona con factores de virulencia plasmídicos, genes específicos (*aut, cpA, fliC, hly, ompA, sip, plas, inv*), uso de ácido siálico, presencia de cápsula y producción de endotoxinas. Además, presenta resistencia a antibióticos *β-lactámicos* y genes de resistencia (*marA, glpT, ampH, blaCSA, mcr).* El uso de Next Generation Sequencing (NGS) ha revolucionado la microbiología al permitir la tipificación precisa de cepas mediante la llamada de alelos gen por gen de todo el genoma. Los esquemas de core genome MLST (cgMLST) consisten en un conjunto fijo de genes conservados, ofreciendo mayor discriminación y precisión. El objetivo de este estudio es caracterizar genómicamente cepas de Cronobacter aisladas de leches en polvo y ambiente de una empresa productora de FIP. SE analizaron 34 cepas aisladas de FIP y superficies de elaboración de 2017 a 2022. Se realizó una tipificación de secuencias multilocus del genoma central (cgMLST) en aislados de Cronobacter utilizando un esquema que comprende 2831 genes objetivo mediante el software Ridom SeqSphere+ v.10.1. Se creó un árbol de expansión mínima (MST) a partir de los perfiles alélicos de los aislados para determinar las relaciones genotípicas. Los clusters se definieron como aislados con una diferencia máxima de 10 alelos. Además, se utilizó MLST convencional para determinar las secuencias tipo (ST) de *C. sakazakii* y *C. malonaticus* (*atpD, fusA, glnS, gltB, gyrB, infB y ppsA*). La susceptibilidad a los antibióticos se evaluó con el método de difusión en disco, siguiendo recomendaciones CLSI. Los discos de antibióticos comerciales incluyen amikacina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, ceftazidima, ciprofloxacina, cloranfenicol, cefotaxima, cefepima, gentamicina, cefalotina y tetraciclina. Para detectar genes de resistencia, virulencia y plasmidos se emplearon ResFinder, AMRFinder y MOB-suite tool integrados en Ridom SeqSphere+ v.10.1. De las cepas analizadas, se encontró *C. sakazaki* ST1, ST4, ST13, ST31, ST83, ST31, ST93 y *C. malonaticus* ST60. Se formaron 11 clúster con cepas estrechamente relacionadas con 1 a 5 alelos de diferencia. De ellas, el 100% fueron resistentes a cefalotina, 9 cepas fueron resistentes a ceftazidima y 4 a ampicilina. Además, 7 y 3 cepas resistentes a 2 y 3 antibióticos, respectivamente. También diversos genes de resistencia compartidos (*bla_{CSA}, $bla_{CMA,}$ fos, qacJ, marA y AcrAB-TolC y mcr-9.1)* y virulencia *(fic, relB, fliC),* mientras que *cpa,*

nanAKT solo presentes en *C. sakazakii.* Todas las cepas presentaban plásmidos y elementos genéticos móviles. Los aislados de *C. sakazakii* y *C. malonaticus* analizados en este estudio mostraron resistencia a múltiples antibióticos, así como diversos genes de resistencia y factores de virulencia. Como resultado, los productos lácteos en polvo contaminados por *C. sakazakii* representan un riesgo significativo para la salud de quienes la consumen. Seguir estrictamente las buenas prácticas de manufactura e higiene, implementar HACCP en la producción de estos productos permitirá que sean más seguros para la población

Agradecimentos: A la Dirección de Investigación de la Universidad del Bío-Bío, Proyecto RE2340221.