

Código: UMSS-DICYT-DCA-2013-GC0002



Diagnóstico molecular de *Streptococcus pneumoniae* capsular, y determinación de cepas resistentes a antibióticos



INVESTIGADOR: Zulema Bustamante Gacia

UNIDAD: Instituto de Investigaciones Bioquímica y Farmacuticas

CENTRO/LABORATORIO: Laboratorio de Biología Molecular

RESUMEN

Se establecieron procedimientos para la identificación molecular de *Streptococcus pneumoniae*, y se aplicaron técnicas para identificar cepas resistentes a los antibióticos frecuentemente utilizados contra esta bacteria. Gracias a este trabajo se cuenta con protocolos que pueden ser utilizados para la identificación molecular y determinación de resistencia en esta bacteria. Se recomienda que se apliquen estas técnicas en los centros de salud, para contar con una información altamente específica para una mejor planificación en tratamientos de neumonías.

ABSTRACT

Procedures were established for the molecular identification of *Streptococcus pneumoniae*, and techniques were applied to identify strains resistant to the antibiotics frequently used against this bacteria. Thanks to this work, there are protocols that can be used for molecular identification and resistance determination in this bacteria. It is recommended that these techniques be applied in health centers, to have highly specific information for better planning in pneumonia treatments.

Descripción y características fundamentales

Los métodos moleculares en el estudio de las bacterias son de gran utilidad en la actualidad puesto que empleadas adecuadamente brindan una información altamente específica y que pueden ser utilizadas para la identificación de bacterias y otros microorganismos; así mismo, se pueden aplicar para conocer los mecanismos de resistencia a los antibióticos información necesaria antes de iniciar algún tratamiento.

Logramos adecuar diferentes técnicas moleculares para realizar una identificación altamente específica de *Streptococcus pneumoniae* y conocer la presencia y el mecanismo de resistencia a los antibióticos frecuentemente utilizados contra esta bacteria. La identificación se basa en la presencia de genes virulentos como son *Lyt A* y *Ply*. Para el procedimiento se realiza una extracción de ADN a partir de cultivos aislados de muestras biológicas y se aplica una PCR simple, obteniendo un resultado rápido y específico.

La determinación de sensibilidad disminuida a las penicilinas, se basa en las mutaciones de las proteínas de unión a las penicilinas que son de diferente tipo, para lo cual se realiza una PCR – RFLP, que consiste en una amplificación de una región del gen por PCR y una posterior hidrólisis con una endonucleasa, la enzima *Hinf I*, lo que permite determinar la presencia de mutaciones cuando existe resistencia a este antibiótico.

En la determinación de sensibilidad disminuida a los macrólidos, se conoce que hay dos mecanismos de resistencia, por lo que es importante determinar el grado y el mecanismo involucrado en la misma, para la cual se utiliza una multiplex PCR, que nos permite obtener esta información.

Estas técnicas fueron utilizadas en nuestro laboratorio con mucho éxito, identificando molecularmente a la bacteria; determinando un 46,8% de sensibilidad disminuida a la penicilina y la asociación de mutación de la PBP 2B con la misma. Asimismo, 6,25% de sensibilidad disminuida a la eritromicina, observando que el mecanismo involucrado es el relacionado con el gen *mef A*.

Consideramos que estas técnicas podrían ser utilizadas por otros laboratorios para identificar a la bacteria y determinar la resistencia a los antibióticos, información necesaria para proponer el tratamiento que se debe seguir respecto a los antibióticos.

Aspectos Innovadores

Información base para la identificación molecular de *Streptococcus pneumoniae*, la identificación de genes de resistencia y su relación con mutaciones en caso de Sensibilidad Disminuida a la penicilina y los mecanismos involucrados en la resistencia a los antibióticos del grupo de los macrólidos. Así mismo, se han establecido protocolos adecuados a nuestros medio que ya pueden ser utilizados por los diferentes laboratorios para el fin mencionado.

La información generada servirá para se realicen estudios más profundos como la secuenciación de los genes para conocer a mayor profundidad estos mecanismos de resistencia.

Ventajas competitivas

Las técnicas moleculares que se adecuaron a las condiciones de muestras y equipos de laboratorio se caracterizan porque son altamente específicas y rápidas de realizar, además de identificar a *Streptococcus pneumoniae*; permiten determinar la resistencia a diferentes antibióticos y los mecanismos genéticos involucrados.

Estas técnicas, utilizando cebadores específicos pueden ser aplicadas para el diagnóstico molecular de otros microorganismos.

Tipo de asociación que busca

El conocimiento generado es útil para Hospitales y especialmente para los servicios departamentales de salud así como para la OPS. Antes de dar un tratamiento con antibióticos es necesario que realicen antibiogramas y que se realice una mejor vigilancia epidemiológica de las IRAs. En relación al costo, si bien son técnicas altamente específicas el costo es relativamente elevado y requiere de equipamiento utilizados en Biología molecular.



Ilustración GC2: Muestra y análisis de laboratorio



Proyecto: Caracterización molecular de genes de resistencia en *Streptococcus pneumoniae* capsular, resistente a antibióticos, aislado de pacientes con infecciones respiratorias de centros hospitalarios de la ciudad de Cochabamba

Financiador: Agencia Sueca de Cooperación para el Desarrollo Internacional (ASDI)

Otras unidades de investigación:

- Laboratorio Asistencial

Organizaciones asociadas al proyecto:

- Laboratorio de Microbiología del Hospital Gastroenterológico
- Instituto Nacional de laboratorios en Salud (INLASA)
- Departamento de infectología del Hospital Viedmann