

Claudia Prieto, Beltina León, Mariana Leguizamón, Cecilia Figoli, Daniela Casco, Carolina Vita, Marcela Hipperdinger, Gonzalo Aguilera, Osvaldo Yantomo y Alejandra Bosch. E-mail: bosch@quimica.unlp.edu.ar

OBJETIVO
Realizar un trabajo cooperativo asociado a la identificación y caracterización fenotípica y genética de microorganismos gram negativos multirresistentes que colonizan las vías aéreas de los pacientes con fibrosis quística (FQ).


1 ¿Cómo empezó el trabajo cooperativo multidisciplinario?
En enero de 2004 surge un brote infeccioso en pacientes FQ atendidos en diferentes hospitales nacionales ocasionado por bacterias del complejo *Burkholderia cepacia* (cBc).

Identificación de los aislamientos por métodos automatizados (VITEK) y propiedades fenotípicas en el hospital

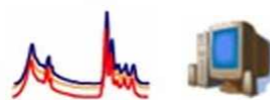
Se alcanza a IDENTIFICAR que pertenecen al complejo Bc

1) Desarrollamos un método basado en espectroscopia infrarroja que permitió discriminar los aislados clínicos y confirmar que el brote originado por organismos del complejo *Burkholderia cepacia* era de origen variado (intrahospitalario y externo)

Espectrómetro FT-IR

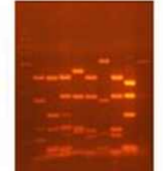


ANÁLISIS DE DATOS




2) Desarrollo de métodos moleculares basados en la caracterización molecular del gen *recA* para identificar los aislamientos a nivel de género, especie y cepa

PCR-*recA*-RFLP-*HaeIII* enzima de restricción



El perfil obtenido se compara con patrones de referencia. Permite la identificación a nivel de especie

Amplificación y secuenciación del gen *recA* para obtener la correcta identificación a nivel de ESPECIE y CEPA



Caracterizamos los organismos de una especie que posteriormente en 2009 se describió como *Burkholderia contaminans*.

2 ¿Cuál es la epidemiología de las especies del complejo *Burkholderia cepacia* en nuestro país?



71 % de los pacientes con FQ colonizados con *B. contaminans*.

3 Los tratamientos con antimicrobianos de uso frecuente en la clínica no controlaban las infecciones pulmonares crónicas por *B. contaminans*. La evolución clínica de los pacientes era muy dispar.

■ Expresión de factores de virulencia

- Agar leche Proteasas
- Agar sangre β-hemólisis
- Tween 80,60,40 Lipasas

■ Exopolisacáridos ■ Formación de biofilm

■ Movilidad

Swarming Swimming Twitching

Analizamos los perfiles de resistencia a antibióticos de más de 150 aislamientos.

- Encontramos un cambio en el perfil de resistencias a antibióticos en los aislamientos recuperados a lo largo de las infecciones crónicas.
- Se pudo establecer que existe una permanente evolución en las propiedades fenotípicas y genéticas de los aislamientos como resultados del surgimiento de organismos con alta tasa de mutación.
- Encontramos que la aparición de variantes no mucoides, de colonia pequeña, hipermutadoras y pigmentadas son indicadores de mal pronóstico en la evolución clínica del paciente.

4 Aislamientos de organismos de Complejo *B. cepacia* de agua de diálisis no pudieron ser identificados ¿es una NUEVA ESPECIE?

A través de un estudio multidisciplinario con otras Universidades de Alemania y Portugal describimos una nueva especie del complejo Bc que denominamos:

→ *Burkholderia puraquae*

5 ¿Cómo lograr la construcción de equipos disciplinares de docentes y alumnos que salgan al territorio comprometidos en colaborar en la resolución de las problemáticas surgidas fuera de la Facultad?

En estos 17 años hemos trabajado docentes, investigadores, becarios y más de 25 estudiantes entendiendo la importancia de pensarlos como herramientas que ayudan a resolver problemáticas surgidas en el hospital, asumiendo juntos el compromiso de fortalecer los vínculos con la comunidad.