

**RECIBIDO  
COMPONENTE II**

Mg. Adriana Monico

Responsable: Equipo Técnico  
CONACYT

Mesa de Entrada: 301

Fecha: 08 OCT. 2015 Hora: 12:08

San Lorenzo, 6 de octubre 2015.-

**Prof. Ing. Luis Alberto Lima Morra,  
Ministro -Presidente del CONACYT  
Presente**

Me dirijo a Ud. y por su intermedio a quien corresponda, a fin de presentar los documentos correspondientes a la **Difusión** de la estancia en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA realizada con los fondos del CONACYT, **Programa Vinculación de Científicos y Tecnólogos, Convocatoria 2013, cód. 14-VIN-019**, que me fuera otorgada.

Adjunto los siguientes documentos:

1. Afiche Invitación ATENEO Difusión
2. Copia lista de asistencia ATENEO Difusión
3. Fotos Ateneo Difusión
4. Presentación Power Point ATENEO Difusión

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para saludarlo muy atentamente.

Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología  
Secretaría General

Mesa de Entrada N° 1788 Fecha: 08 OCT 2015 Hora: 13:59

Recibido Por: Lillian Maidana Derivado a:

Residencia: CONACYT Proyectos

SEONA: Asesoría Legal

CONACYT: Auditoría Interna

CGAF: Informática

Obs.: SECON

VºBº  
Ministro, Presidente  
CONACYT

*Fátima*  
**Fátima Rodríguez Acosta, Mg**

Dpto. Biología Molecular y Biotecnología

IICS, UNA

CI: 4414654

*ME*  
María E. Arrellano  
Secretaria General  
CONACYT  
08/10/15



*A P B...*  
08 OCT. 2015

*(66) R...*  
Econ. Rocio Valenzuela  
Equipo Técnico  
CONACYT

**Mesa de Entrada**  
SECON

Firma: Lic. Antonella Larriba *AL*  
Equipo Técnico  
CONACYT

Nº Entrada: 1549

Fecha: 07 10 2015

Hora: 09:40



*Universidad Nacional de Asunción*

RECTORADO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN  
CIENCIAS DE LA SALUD

## **ATENEOS 2015**

Disertante:

*Mag. Fátima Rodríguez*

*Dpto. de Biología Molecular y Biotecnología*

Título:

- ✘ Variabilidad Genética de *Staphylococcus aureus* aislados de niños de la comunidad.

Fecha: 05 de octubre de 2015




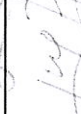









Hora: 10:00 hs



Lugar: Aula 1.

IICS-UNA

05 de octubre      Disertante: Dra. Fátima Rodríguez. Dpto. de Biología Molecular y Biotecnología

ASISTENCIA

Nombres y apellidos	Correo electrónico	Firma
Ilda Sánchez León	zanyssant@netmail.com	
Ana Cardozo	fai.cand@netmail.com	
Die Jolly	valleyd@guah.com	
Marina Faveth	ammpave@hotmail.com	
Natalia Rojas V.	nat.rojas@hotmail.es	
Theresa Palacios	graciela.p@netmail.com	
M. Azar	andresinikogi@ics.una.py	
Diego Cardozo	helen.villamayor@gmail.com	
Ana Zentgraf	karen.stomagus@hotmail.com	
Ana B. Anacleto	neelia.cuatenpa8@gmail.com	
Ana Echiburú	gemma.kopue@phos.com	
Ana Silvana	eluseini@hotmail	
Ana Sofía de Sforza	lilic@unsa.gub.uy@gmail.com	

Nombres y apellidos	Correo electrónico	Firma
Cecilia Campos		
WESLIZAMON		
X		



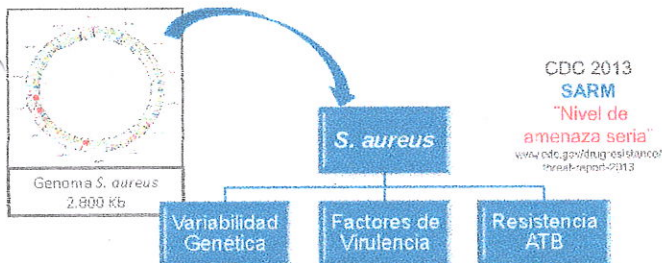
Jenny

## Variabilidad Genética de *Staphylococcus aureus* de la comunidad aislados de niños paraguayos

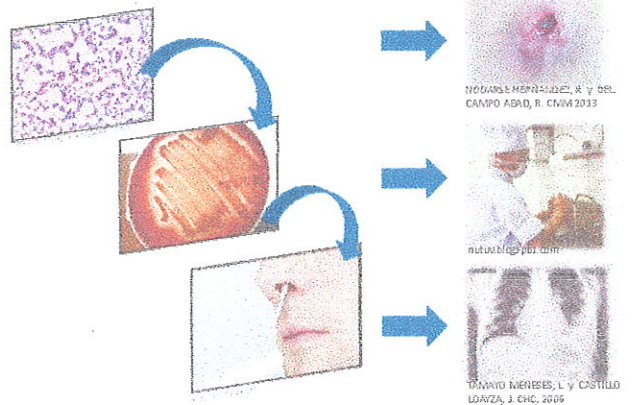
Mg. Fátima Rodríguez  
 Área de Bacteriología Molecular  
 Dpto. Biología Molecular y Biotecnología-IICS, UNA

### *Staphylococcus aureus*

- Nosocomial y comunitario (PARR 2010; Nogueira et al 2010)
- Infecciones de gravedad variable (PARR 2010)



### *Staphylococcus aureus*



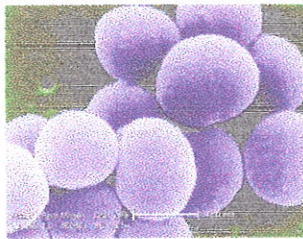
### Identificación Clonal

- Epidemiología compleja
  - Sólo herramientas moleculares COMBINADAS
- ✓ **Definición de clones MRSA precisa identificar**
- Secuenciación – ST- (secuenciación- MLST)
  - Cassette *mec* – *SCCmec* (PCR múltiple)
  - Tipificación locus *Spa* (secuenciación *Spa Typing*)
  - Factores de virulencia (PCR)

*Fátima*

## Métodos moleculares

Identificación Clonal		Similitud de Alisados	
<b>MLST</b>	<i>spa typing</i>	<b>PFGE</b>	<b>MLVA</b>
Estándar para evolución a largo plazo	Secuenciación de 7 genes constitutivos.	Estándar para seguimiento a corto plazo (BROTOS)	Específico para <i>S. aureus</i> .
	Secuenciación del gen que codifica para la proteína A (simple locus).	Alto poder discriminatorio. Analiza genoma completo. Patrón <i>SmaI</i> PFGE.	Amplificación de 7 genes PCR + Electroforesis



¿Cómo abordar el estudio epidemiológico de SARM-CO?

Un problema con muchas aristas - Sólo abordable colaborando desde múltiples enfoques: **clínico-microbiológico-molecular**

## Evolución de clones SARM en América Latina

Rodríguez-Noguera. Int J Inf Diseases. 14(2010): 560-566

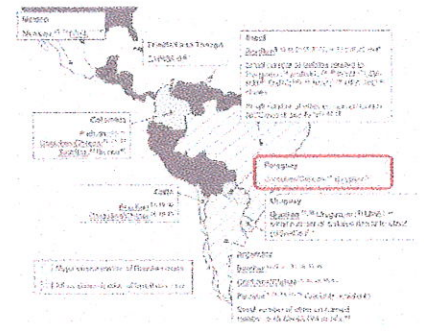
**Características genéticas clones MRSA reportados en Paraguay**

**Nosocomial**  
**Mayo I, 2007**  
**(FRANCIA)**

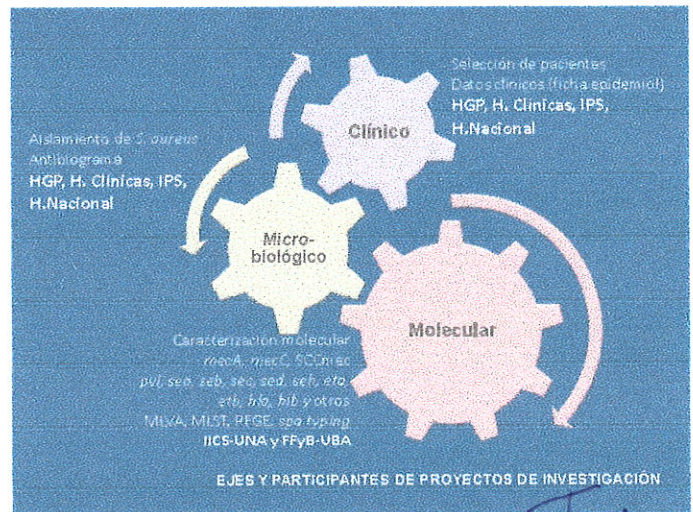
**Clon Córdoba-Chileno**  
 CC5, ST5, MRSA  
 SCCmec I

**Clon Brasilerio**  
 CC8, ST239, MRSA  
 SCCmec IIIA

**Proteíntoxicación alimentaria Weller**  
**2011 (ARGENTINA)**  
 Genes *secY sed*



ST 5: Mayor L. Córdoba-Chileno (Mendoza, 1998) - Clon del E. Gendron C. et al. (Mendoza) (Argentina) y el ST5 en el SR-5 (Paraguay). Replicación de clones en países adyacentes de América Latina. J. Clin. Microbiol. 2011;49(10):3200-3208



*J. Rodríguez-Noguera*

## Metodología

### Diseño Estudio

- Descriptivo de Corte Transverso
- Muestreo No Probabilístico de Casos Consecutivos
- 113 aislados de *S. aureus*

### Componente Clínico y Microbiológicos

- Aislados comunitarios de niños menores de 15 años.
- Sec. Piel, partes blandas y Líq. Corporales
- Fenotipo y Antibiógramas: 24 SARM

### Componente Molecular (IICS)

- *mecA* y *PvL* (2011)
- Enterotoxinas, hemolisinas, toxinas exfoliativas (2013)
- MLVA, *spa* typing, MLST (2014)

## Antecedentes

- 24 aislados SARM, IPPB de niños.
- Datos clínicos: tipo de infección,
- Datos fenotípicos: antibiograma y,
- Datos genotípicos:

Factores de virulencia: genes *luk-PV*, *hla*, *hlb*, *seA*, *seB*, *seC*, *seD*, *seH*, *etA*, *etB*

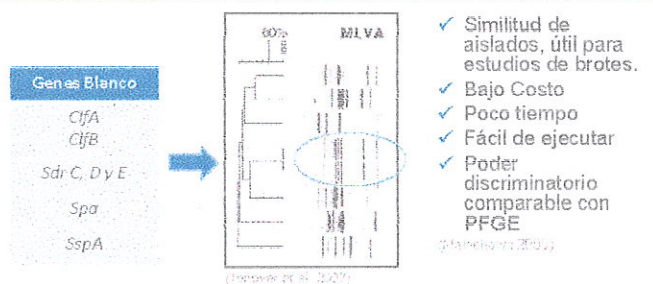
Tipificación: MLVA (pendiente confirmación similares)

Secuencias MLST y *spa* Typing (pendiente análisis)

Pendiente *Cassette SCCmec*

Estancia FFyB-UBA

## Multiple-Locus Variable Analysis (MLVA)



**POTENCIAL:** INVESTIGACIÓN EN CASOS SOSPECHOSOS DE BROTES Y EPIDEMIOLOGIA

## Estancia FFyB-UBA

Laboratorio de Resistencia Bacteriana.

Tutora: Dra. Marta Mollerach

### PFGE: Confirmación de aislados similares por MLVA

1. Repique *S. aureus*
2. Preparación de plugs y digestión con la enzima de restricción *Sma* I
3. Electroforesis en Campo Pulsado
4. Tinción y visualización del gel bajo luz UV y registro fotográfico



Jody



## Estancia FFyB-UBA

Laboratorio de Resistencia Bacteriana.  
Tutora: Dra. Marta Mollerach

### PFGE: Confirmación de aislados similares por MLVA

1. Repique *S. aureus*
2. Preparación de plugs y digestión con la enzima de restricción *Sma*I
3. Electroforesis en Campo Pulsado
4. Tinción y visualización del gel bajo luz UV y registro fotográfico

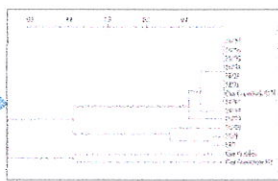
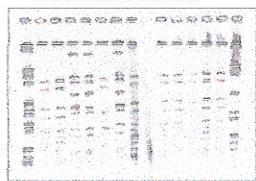


## Estancia FFyB-UBA

Laboratorio de Resistencia Bacteriana.  
Tutora: Dra. Marta Mollerach

### PFGE: Confirmación de aislados similares por MLVA

1. Repique *S. aureus*
2. Preparación de plugs y digestión con la enzima de restricción *Sma*I
3. Electroforesis en Campo Pulsado
4. Tinción y visualización del gel bajo luz UV, registro fotográfico y análisis con software Treecon

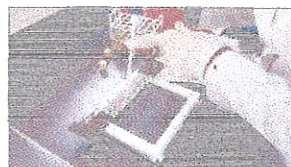


## Estancia FFyB-UBA

Laboratorio de Resistencia Bacteriana.  
Tutora: Dra. Marta Mollerach

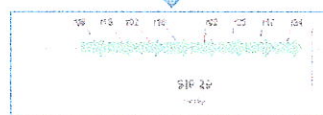
### PFGE: Confirmación de aislados similares por MLVA

1. Repique *S. aureus*
2. Preparación de plugs y digestión con la enzima de restricción *Sma*I
3. Electroforesis en Campo Pulsado
4. Tinción y visualización del gel bajo luz UV y registro fotográfico



## Estancia FFyB-UBA. Análisis *Spa* Typing

1. Amplificación *gen spa* (Shopsin et al 1999)
2. Secuenciación *gen spa* PARAGUAY
3. Alineación Secuencias; software ChromasLite V2.01.
4. Análisis de repeticiones base de datos *Spa* Typing [www.spaserver.tcd.ie](http://www.spaserver.tcd.ie), software Vector NTI V11.0.
5. Definición *Spa* tipo.



Spa tipo t019

*Jody*

## Estancia FFyB-UBA. Análisis MLST

1. Amplificación y secuenciación genes: arcc, aroe, glpf, gmk, pta, tpi e yquil,
2. Obtención secuencia consenso, software Vector NTI V11.0.
3. Comparación con base de datos del MLST: [www.mlst.net](http://www.mlst.net).
4. Obtención alelos que conforman el secuenciotipo de la misma.

Ej:  
SIP 29 → arcc → alelo 2  
          aroae → alelo 2  
          glpf → alelo 2  
          gmk → alelo 2      ST-30  
          pta → alelo 6  
          tpi → alelo 3  
          yquil → alelo 2

## CONCLUSIONES

La PFGE permitió validar los resultados obtenidos por MLVA, en el cual se observaron tres pequeñas agrupaciones (descarta presencia de brotes) que incluían a aislados con mismas características fenotípicas y genotípicas.

El 22% de los aislados está estrechamente relacionado al clon responsable de las infecciones más severas causadas por SARM de la comunidad en la región (PFGE A, SCCmecIV, spat311, ST5). El 54% está relacionado al clon comunitario PFGE C, SCCmecIV, spat019, ST30.

## Estancia FFyB-UBA. RESULTADOS

- ✓ PFGE (Pulsotipo A, C)
- ✓ Spa typing t019, t311.
- ✓ MLST: ST-30 y ST-5
- ✓ Cassete SCCmec tipo IV

### Clones Identificados

ST30-t019-IV-PC(54%)

ST5-t311-IV-PA (22%): clon responsable de las infecciones más severas causadas por SARM de la comunidad en la región (PFGE A, SCCmecIV, spat311, ST5).

## RELEVANCIA

La importancia otorgada a las cepas SARM no sólo radica en la resistencia intrínseca a todos los antibióticos betalactámicos, sino también a su mayor patrón de resistencia a otros antibióticos y en su facilidad de adaptación a otros ambientes. Se debe considerar a los clones circulantes a nivel país, con el fin de dar el tratamiento oportuno, tomar medidas de control como aislamiento del paciente y otras medidas de higiene para evitar su propagación.

## AGRADECIMIENTOS

- ✓ Laboratorio de Resistencia Bacteriana. FFyB-UBA
- ✓ CONACYT. Estancia financiada por el Programa de Vinculación de Científicos y Tecnólogos del CONACYT.



*Foot*