



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

---

SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E  
INVESTIGACIÓN.  
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN BIOMEDICINA Y  
BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

**Caracterización de cepas de  
*Pseudomonas aeruginosa* aisladas  
de pacientes hospitalizados**

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN QUE

Presenta:

**FUENTES ZACARÍAS PAULINA**

**Directores:**

Dra. Graciela Castro Escarpulli

Dr. José de Jesús Alba Romero



Ciudad de México. 2017

El presente trabajo se llevará a cabo en el laboratorio de Bacteriología Médica del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional y el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango bajo la dirección de la Dra. Graciela Castro Escarpulli y del Dr. José de Jesús Alba Romero.

Forma parte del proyecto: Genómica comparativa de enteropatógenos poco Frecuentes en México. Clave SIP: 20171099



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS.  
POSGRADO EN BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR. PROTOCOLO DE MAestrÍA  
“Caracterización de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados”

**Alumno:** Paulina Fuentes Zacarías.

**Directores de Tesis:** Dra. Graciela Castro Escarpulli  
Dr. José de Jesús Alba Romero

**Introducción:** *P. aeruginosa* es una bacteria ambiental ubicua patógena oportunista del humano por excelencia. Es de particular relevancia como agente causal de Infecciones Asociadas a la Atención a la Salud (IAAS) debido a la multitud de factores de virulencia y mecanismos de resistencia que posee la bacteria codificados tanto en el genóforo como en elementos genéticos adquiridos por transferencia horizontal de genes. La adquisición de estos últimos podría considerarse una ventaja para el microorganismo, sin embargo, la entrada de elementos genéticos externos a la célula es un proceso regulado por el sistema CRISPR/cas.

**Justificación:** *P. aeruginosa* es considerado el patógeno oportunista más temido debido a la diversa gama de factores de virulencia y mecanismos de resistencia a antimicrobianos que posee. La caracterización de diferentes cepas de *P. aeruginosa* provenientes de aislados clínicos de pacientes hospitalizados para determinar la presencia o ausencia de algunos de los factores de virulencia relacionados con su patogenicidad y su relación con la presencia o ausencia del sistema CRISPR/cas en dichas cepas es de gran interés debido a la importancia clínica que la bacteria representa a nivel nacional e internacional.

**Hipótesis:** Las cepas de *P. aeruginosa* provenientes de aislados clínicos expresan diversos factores de virulencia y mecanismos de resistencia a antimicrobianos intrínsecos o adquiridos. Por lo tanto, la presencia de dichos elementos codificados en material genético extracromosomal tiene correlación con la presencia del sistema CRISPR/cas.

**Objetivo General:** Caracterizar 100 cepas diferentes de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados.

**Metodología:** Se trabajará con 100 aislados clínicos provenientes de pacientes hospitalizados en distintas clínicas del municipio de Gómez Palacios, Durango, previamente identificadas. Se analizará la sensibilidad a antimicrobianos con base en lo establecido por el CLSI, 2017. Se tipificarán molecularmente por la técnica ERIC-PCR, se analizará la formación de biopelícula de las cepas por los métodos de Rojo Congo, Antrona y Microscopía electrónica de Barrido. Se analizará el perfil de plásmidos de cada una de las cepas. Se detectarán los genes *mucA* y *toxA* mediante la PCR de punto final. Finalmente se detectará la presencia del sistema CRISPR/cas en las cepas y se relacionará con los resultados obtenidos de la sensibilidad a antimicrobianos y la presencia de los factores de virulencia.

**Alcance:** Los resultados obtenidos ampliarán el panorama de las infecciones de importancia clínica causadas por cepas de *P. aeruginosa* comúnmente aisladas de centros de salud, y podría aportar información valiosa para la mejora del manejo o tratamiento de dichos pacientes.

**Referencias:** Ostria-Hernández ML, Sánchez-Vallejo CJ, Ibarra JA, Castro-Escarpulli G. Survey of clustered regularly interspaced short palindromic repeats and their associated Cas proteins (CRISPR/Cas) systems in multiple sequenced strains of *Klebsiella pneumoniae*. BMC Res Notes. 2015; 8:332  
Buyck JM, Tulkens PM, Van-Bambeke F. Pharmacodynamic Evaluation of the Intracellular Activity of Antibiotics towards *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in a Model of THP-1 Human Monocytes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2013; 57(5): 2310–2318.  
Okkotsu Y, Little AS, Schurr MJ. The *Pseudomonas aeruginosa* AlgZR two component system coordinates multiple phenotypes. Front Cell Inf and Microb. 2014; 82(4). doi: 10.3389/fcimb.2014.00082.

SEMINARIO DEL PROGRAMA DE BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

Enero - junio 2017

**CONTROL PARA ENTREGA DEL EXTENSO**

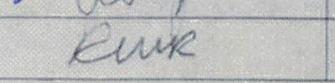
Estimados Investigadores:

Por medio de la presente le comunicamos de la próxima presentación del seminario del posgrado en Biomedicina y Biotecnología Molecular del alumno(a):

Paulina Fuentes Zacarías

La cual tendrá lugar en el Auditorio de Bioquímica el día 20 de septiembre a las 9:00 am.

Los alumnos deben informar oportunamente a su(s) director(es) de tesis y a los investigadores que integran su comité tutorial de la presentación de su seminario y entregar su resumen en extenso siete días antes de la presentación, por cual les solicitamos atentamente, firmar y anotar la fecha en que recibieron el extenso para verificar que se les ha hecho de su conocimiento esta información.

| Investigador                    | Firma  | Fecha entrega del extenso |
|---------------------------------|--|---------------------------|
| Dra. Graciela Castro Escarpulli |   | 13/09/2017                |
| Dr. José de Jesús Alba Romero   |  | 13/09/17                  |
| Dr. Jorge F. Cerna Cortés       |  |                           |
| Dr. Ernesto Alarcón Hernández   |  | 13/09/2017                |
| Dr. Rogelio Maldonado Rodríguez |  | 13/09/2017                |

Saludos cordiales

Dra. Ma. Guadalupe Aguilera Arreola  
Dr. Ernesto Alarcón Hernández  
Coordinadores del Seminario BBM 2017