

Area: CM - Cs. Médicas

Título del Trabajo: **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DEL COMPLEJO CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS - CRYPTOCOCCUS GATTII AISLADAS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO**

Autores: CATTANA, MARIA E. - FERNÁNDEZ, MARIANA S. - SOSA MARIA A.

E-mail de Contacto: memiliacattana@yahoo.com.ar

Tipo de Beca: Cofinanciadas Tipo I Resolución Nº: 984 Período: 01/04/2011 - 01/04/2014

Proyecto Acreditado: L002-2011, Genotipificación de cepas de origen ambiental y clínico del complejo *Cryptococcus neoformans*, Universidad Nacional del Nordeste (Secretaría general de Ciencia y Tecnología, Período 2012-2014)

Lugar de Trabajo: Instituto de Medicina Regional

Palabras Claves: genotipos, PCR-RFLP, criptococosis

Resumen:

La criptococosis es una infección fúngica causada por levaduras capsuladas del género *Cryptococcus*, particularmente las que se encuentran dentro del denominado complejo *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii*. Estas levaduras se encuentran distribuidas en el ambiente y son agentes causales de meningitis y meningoencefalitis. Por biología molecular se distinguen 8 tipos moleculares dentro de dicho complejo: VNI y VNII (*C. neoformans* var. *grubii*); VNIV (*C. neoformans* var. *neoformans*); VNIII (genotipos híbridos de ambas variedades); VGI, VGII, VGIII y VGIV (*C. gattii*). Hasta el momento, en el nordeste argentino no se conocen cuales son los tipos moleculares que se presentan como agente de criptococosis. El objetivo de este estudio fue genotipificar cepas del complejo *C. neoformans-C. gattii* aisladas de líquido cefalorraquídeo. Estas cepas se encontraban depositadas en la Colección de Cultivo del Área de Micología del Instituto de Medicina Regional (UNNE). Para el estudio se realizó la extracción de ADN a partir de cultivos puros de *Cryptococcus* en agar Sabouraud de 24-48 hs, y se aplicó una combinación de técnicas basadas en métodos físicos, químicos y enzimáticos que incluyeron shock térmico; tratamiento con la enzima Proteinasa K; tratamiento con CTAB; purificación de ADN con cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y precipitación del ADN con alcoholes (Etanol 100 y 70). Para la caracterización molecular se aplicó la técnica de PCR-RFLP del gen *URA5* con la posterior doble digestión enzimática con las enzimas *Sau96I* y *HhaI*, y comparación de los fragmentos obtenidos con los obtenidos para cepas de referencia, según lo descripto por Meyer y col. Se analizaron 23 cepas aisladas de LCR de pacientes con criptococosis. El 78,3% (18) de las cepas fueron tipificadas como *C. neoformans* var. *grubii* VNI lo que concuerda con los informes que señalan a este genotipo como el causante de la mayoría de las criptococosis en pacientes inmunocomprometidos y el más prevalente en todo el mundo, tanto en muestras clínicas como ambientales. Un 8,7% (2) correspondió a *C. neoformans* var. *grubii* VNII, 8,7% (2) a *C. gattii* VGI, y 4,3% (1) a un híbrido de *C. neoformans* var. *grubii* de los tipos moleculares VNI-VNII. Los genotipos VGI y VGII son los que refieren menor sensibilidad a los antifúngicos y mayores niveles de heteroresistencia, especialmente al fluconazol, droga utilizada normalmente como terapia de mantenimiento y terapia profiláctica para la criptococosis. Este hecho destaca la importancia de la tipificación molecular, ya que puede brindar una importante información para orientar al tratamiento y profilaxis. Estos datos son una contribución al conocimiento sobre los tipos moleculares circulantes en el nordeste argentino.