



XXIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CM-001 (ID: 577)

Autor: Sotelo, Ailin Angelina

Título: Nuevo método de detección y cuantificación de Chlamydia trachomatis por PCR en Tiempo Real

Director:

Palabras clave: ITS,diagnóstico,PCR,Taqman

Área de Beca: Cs. De La Salud

Tipo Beca: Iniciacion Tipo B

Periodo: 01/03/2016 al 01/04/2017

Lugar de trabajo: Facultad De Medicina

Proyecto: (13I004) Diseño de real time PCR para detección simultánea de microorganismos de transmisión sexual de difícil aislamiento.

Resumen:

Chlamydia trachomatis (CT) es una bacteria pandémica (92 millones de nuevos casos anuales en todo el mundo) y es reconocida como la primer causa de infecciones del tracto genital inferior a nivel global. La detección de ADN se transformó en el gold standard, sin embargo en nuestra región no es todavía de uso rutinario en el diagnóstico clínico. El uso PCR en tiempo real (qPCR) se caracteriza por ser una técnica de alta sensibilidad, reproducibilidad y eficiencia, que genera resultados confiables en poco tiempo y fáciles de analizar. El formato de detección con sondas de hidrólisis Taqman permite cuantificar la cantidad de copias de DNA bacteriano presente en la muestra, objetivo principal de este desarrollo. Se procedió al diseño de cebadores en forma conjunta con sondas de hidrólisis que amplificasen regiones del plásmido críptico de 7,5 KB específico de C. trachomatis. Una vez evaluada la performance de los primers con colorantes intercalantes se obtuvo la sonda de hidrólisis específica. Para optimizar la cuantificación usando la mezcla diseñada de cebadores y sonda se procedió a clonar plásmidos que contengan el amplicón resultante del mismo, funcionando de esta manera como controles positivos cuantificables. Utilizando los plásmidos clonados se elaboró una curva estándar calculando el coeficiente de correlación y eficiencia de amplificación. Los resultados del diseño y posteriormente validación técnica cuantitativa de esta metodología han resultado satisfactorios. Si bien los datos indican que la metodología diseñada se encuentra dentro de parámetros aceptables aún restan detalles de optimización. Dado que las infecciones de transmisión sexual siguen siendo un problema de compleja resolución en el nordeste argentino, el posible desarrollo y posterior transferencia de éste tipo de metodologías al ámbito de los laboratorios clínicos para que se realicen de manera rutinaria implica un importante avance en lo que hace a la detección rápida, confiable y con adecuada relación costo-beneficio del diagnóstico. Además, permitirá definir conductas más adecuadas para la caracterización, el control y el seguimiento de las pacientes con infecciones agudas y crónicas por C. trachomatis.