



XXII Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas

Orden Poster: CM-018 (ID: 150)

Autor: Borges, Edgardo Maximiliano

Título: Identificación de Bacillus spp mediante matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

Director:

Palabras clave: Discriminación, fenotipos, espectrometría de masa

Área de Beca: Cs. De La Salud

Tipo Beca: Iniciación Tipo A

Periodo: 03/03/2014 al 31/12/2016

Lugar de trabajo: Imr - Instituto De Medicina Regional

Proyecto: (12L002) Estudio integral de la infección por toxocara canis en el nea.

Resumen:

INTRODUCCIÓN: El Género Bacillus incluye organismos grampositivos esporulados cuyo hábitat generalmente es el suelo constituyendo un importante grupo que posee interés como fuentes de enzimas industriales para alimentos, textiles y las industrias químicas. La identificación de estos microorganismos en el laboratorio de microbiología se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante pruebas fenotípicas y un avance importante fue la automatización de estas pruebas permitiendo un diagnóstico más rápido. El desarrollo de la tecnología de MALDI-TOF MS (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry) hace más de 30 años ha permitido la utilización de la espectrometría de masas en el diagnóstico microbiológico de rutina, favoreciendo la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas, principalmente ribosomales, a partir de colonias o directamente de muestras a través de la creación de un espectro de masas específico para cada especie.

El objetivo del presente trabajo fue aplicar la tecnología MALDI-TOF MS para la identificación de cepas de Bacillus spp recuperados de suelos de la ciudad de Resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS: Recolección de muestras: Se recolectaron muestras de suelos con diferentes características en la localidad de Resistencia. Las muestras se identificarán según la cobertura vegetal que presentaban, características edafológicas y tipo de uso. Se tomaron aproximadamente 20-50 g de muestra de suelo en los primeros 10 cm de profundidad, limpiando previamente la superficie con una paleta de madera estéril. Las mismas fueron recolectadas en bolsas de papel y guardadas en heladera hasta su procesamiento.

Preparación y cultivo de muestras: El aislamiento de bacterias del género Bacillus se llevó a cabo por medio de la suspensión de 1 g de muestra de suelo en 9 ml de agua destilada estéril y se homogeneizó vigorosamente en un vórtex durante 3 min. A continuación se colocaron en baño maría a 82°C por 30 min y posteriormente se pasó a un baño de hielo por 30 min más. Se realizó una dilución 1:10 de la cual se sembrarán 10 µl en placas de medio de cultivo cromogénico CHROMAgar Orientation®, que se incubaron a 28°C durante 24 horas.

Identificación bacteriana: Se seleccionaron las colonias características del género Bacillus, tomando en cuenta su aspecto y morfología macroscópica típica, a las cuales se les realizaron coloración de Gram y pruebas bioquímicas para confirmación del Género. Posteriormente se realizó la identificación de especies mediante la tecnología MALDI-TOF MS, siguiendo protocolos previamente descritos.

RESULTADOS: Hasta la fecha se aislaron 20 cepas de Bacillus. De ellas, 17 se han podido identificar mediante MALDI-TOF MS según el siguiente detalle: GRUPO 1: B. cereus (6 Aislamientos), B. cereus/B. thuringiensis (6 Aislamientos), GRUPO 2: B. subtilis (1 Aislamiento), B. subtilis/B. mojavensis (1 Aislamiento) y GRUPO 3: B. megaterium (1 Aislamientos), B. megaterium/B. litoralis (1 Aislamiento), B. megaterium/B. pumilus (1 Aislamiento)

CONCLUSIONES: En el presente trabajo, los aislamientos estudiados pudieron ser divididos en tres grandes grupos, pero en 9 ocasiones no fue posible separar especies diferentes. Esto se debe a la gran similitud fenotípica y genotípica de algunas especies de Bacillus. La adición de estudios moleculares sería una herramienta útil para alcanzar una identificación definitiva a nivel de especies.