

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

**Resistencia a fluoroquinolonas por mutaciones en el
gen *gyrA* de *Neisseria gonorrhoeae* de muestras clínicas
de orina y de hisopado faríngeo y rectal**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biología
Molecular

AUTOR

Liz Fiorella SÁNCHEZ PALENCIA

ASESOR

Ruth GARCÍA DE LA GUARDA

Lima – Perú

2018

RESUMEN

Neisseria gonorrhoeae se está convirtiendo en un problema muy importante de salud pública a nivel mundial ya que cada vez que aparece un antimicrobiano para su tratamiento ésta se vuelve resistente. Considerando que *N. gonorrhoeae* resistente a quinolonas (QRNG) es cada vez más frecuente, ya no se recomienda esta droga como tratamiento en algunas regiones de América y África y, según la OMS, esta resistencia continuará aumentando en todo el mundo por lo que recomienda se refuerce la vigilancia de la resistencia antimicrobiana para orientar a un mejor tratamiento. Actualmente en el Perú se cuenta con pocos reportes de QRNG y aún se considera a las fluoroquinolonas como fármacos de primera línea, por lo que se hace necesario contar con una data actual de su resistencia. En este estudio se busca determinar dicha resistencia directamente a partir de muestras clínicas como orina e hisopados, detectando las mutaciones en Ser-91 y Asp-95 en la Región Determinante de Resistencia a Quinolonas (QRDR) del gen *gyrA*, así como la frecuencia de dichas mutaciones, mediante PCR en tiempo real y secuenciamiento. Se colectaron 1096 muestras de orina y de hisopados faríngeos, rectales y uretrales entre el 2012 y el 2013. Las muestras positivas a *N. gonorrhoeae* se detectaron mediante el ensayo APTIMA Combo 2 empleando la tecnología de la Amplificación Mediada por Transcripción (TMA). Luego, se extrajo el ácido nucleico a partir de los tubos de recolección de muestras de APTIMA, se realizó la PCR en Tiempo Real para determinar las QRNG. Las que salieron resistentes fueron seleccionadas para su secuenciamiento y posterior análisis de los patrones de mutación resultantes en el gen *gyrA*. Se detectó que el 12% de los varones que tienen sexo con hombres (HSH) fueron positivos a *N. gonorrhoeae* donde el 19% de las muestras fueron QRNG. La orina (34.9%) seguida por el hisopado rectal (33.4%) fueron los tipos de muestras más prevalentes de QRNG. En el secuenciamiento, se obtuvo que el patrón de mutación más frecuente observado fue la doble mutación de Ser-91 a Phe y de Asp-95 a Gly. En conclusión, se encontró una alarmante frecuencia de QRNG en 24 de cada 100 HSH, cifra nunca antes mencionada para Perú siendo la mutación más frecuente la doble mutación de Ser-91 a Phe y Asp-95 a Gly lo que indica la presencia de *N. gonorrhoeae* con una elevada resistencia a quinolonas en muestras clínicas de Lima-Perú. La muestra en la que se obtuvo mayor frecuencia de QRNG fue la orina (46%).

Palabras clave: *Neisseria gonorrhoeae*, QRNG, QRDR, TMA, gen *gyrA*, quinolonas, resistencia antibiótica.

ABSTRACT

Neisseria gonorrhoeae is becoming a very important public health problem worldwide because every time an antimicrobial appears for its treatment it becomes resistant. Considering that *N. gonorrhoeae* resistant to quinolones (QRNG) is increasingly frequent, this drug is no longer recommended as treatment in some regions of America and Africa and, according to the WHO, this resistance will continue to increase throughout the world for what they recommend the surveillance of antimicrobial resistance is reinforced to guide a better treatment. Currently in Peru there are few reports of QRNG and fluoroquinolones are still considered as first-line drugs, so it is necessary to have a current data on their resistance. This study aims to determine this resistance directly from clinical samples such as urine and swabs, detecting mutations in Ser-91 and Asp-95 in the Determining Region of Resistance to Quinolones (QRDR) of the *gyrA* gene, as well as the frequency of said mutations, by means of real-time PCR and sequencing. 1096 samples of urine and pharyngeal, rectal and urethral swabs were collected between 2012 and 2013. The samples positive for *N. gonorrhoeae* were detected by the APTIMA Combo 2 assay using the technology of Transcription Mediated Amplification (TMA). Then, the nucleic acid was extracted from the APTIMA sample collection tubes, Real Time PCR was performed to determine the QRNG. Those that emerged resistant were selected for sequencing and subsequent analysis of the resulting mutation patterns in the *gyrA* gene. It was detected that 12% of men who have sex with men (MSM) were positive to *N. gonorrhoeae* where 19% of the samples were QRNG. Urine (34.9%) followed by rectal swab (33.4%) were the most prevalent types of QRNG samples. In the sequencing, it was obtained that the most frequent mutation pattern observed was the double mutation of Ser-91 to Phe and of Asp-95 to Gly. In conclusion, an alarming frequency of QRNG was found in 24 out of 100 MSM, a figure never mentioned before for Peru being the mutation more frequent the double mutation of Ser-91 to Phe and Asp-95 to Gly indicating the presence of *N. gonorrhoeae* with a high resistance to quinolones in clinical samples of Lima-Peru. The sample with the highest QRNG frequency was urine (46%).

Key words: *Neisseria gonorrhoeae*, QRNG, QRDR, TMA, *gyrA* gene, quinolones, antibiotic resistance.