

IDENTIFICACIÓN DE LA SUBUNIDAD A DE LA FIMBRIA TIPO 1 DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE EMPLEANDO INMUNOPROTEÓMICA

MCB. Ulises Vega Castillo, Dr. Héctor Samuel López Moreno, Dr. Salvador Velarde Félix.
Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Laboratorio de Biomedicina Molecular, Culiacán Sinaloa, 80013. Ulisesvega.fcqb@uas.edu.mx

Palabras clave: inmunoproteómica, Klebsiella pneumoniae, fim1A

Introducción. *Klebsiella pneumoniae* es un patógeno bacilar Gram negativo, extremadamente resistente a diversos fármacos utilizados en la práctica clínica, considerado oportunista, ya que es capaz de colonizar diversos sitios anatómicos de pacientes inmunocomprometidos y/o hospitalizados. El incremento de la aparición de cepas multidrogoresistentes (MDR) en nosocomios deriva la importancia del estudio y con ello obtener información de las características adquiridas mediante mutaciones en su cromosoma, transferencia horizontal de genes del gran repertorio de proteínas codificadas en el genoma de *K. pneumoniae* y los mecanismos por los cuales es capaz de adquirir MDR y así evadir el sistema inmune del hospedero. La inmunoproteómica representa una herramienta de gran utilidad para caracterizar proteínas y moléculas efectoras reactivas expresadas diferencialmente que permitirá el potencial desarrollo de métodos de diagnóstico o vacunas y finalmente un mayor entendimiento en la fisiopatología asociada a *K. pneumoniae*.

Metodología. Se emplearon 3 aislados clínicos de *K. pneumoniae* pareados con los sueros de los pacientes infectados, e incluimos a *K. pneumoniae* (ATCC 13883) en la comparativa proteómica empleando IPGs con rango de pH de 3-10. Se evidenció un perfil proteómico de 158 proteínas, contabilizadas con el software ImageLab, de las cuales 66 (41.8%) fueron inmunoreactivas a los sueros de los pacientes. Se logró identificar un nuevo antígeno correspondiente al spot de 19KDa y pI de 5.0 denominado p19, mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS). El espectro MS/MS proporcionó información parcial de la secuencia de los péptidos, los cuales fueron comparados con secuencias de proteínas en bases de datos usando el algoritmo SEQUEST. Finalmente el modelado de la estructura de la proteína perteneciente a un aislado clínico se llevó a cabo en la plataforma virtual Protein Fold Recognition Server Phyre 2.

Resultados.

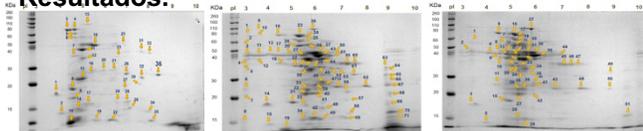


Figura 1. Se observan 36 spots pertenecientes al proteoma de la cepa de *K. pneumoniae* ATCC 13883.

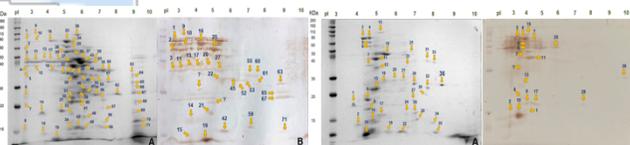


Figura 2. Inmunoproteoma de los aislados clínicos Kp. En el panel A, se observan los spots representativos de la expresión del perfil proteómico del aislado clínico Kp54, por SDS-PAGE. En el panel B se muestra que, de los 51 spots obtenidos, 16 de ellos son presentados reactividad con sueros de pacientes que presentaron la infección por *K. pneumoniae*

Figura 3. Predicción de la estructura de proteína fimbrial tipo 1 presente en *K. pneumoniae*. el resultado fue visualizado en el programa "UCSF Chimera" obteniendo la estructura tridimensional de la proteína, en donde se destaca la sección marcada con color azul perteneciente al péptido DSAHPK obtenido por el espectrómetro de masas. Esta región que podría estar implicada en el reconocimiento inmunológico por parte del hospedero.



Conclusiones. Estos resultados sugieren que los antígenos identificados son potencialmente inmunodominantes y que la presencia de anticuerpos en suero de pacientes que cursaron la

infección. Esto indica que la expresión de las proteínas evidenciadas respectivamente *in vivo* evoca una respuesta humoral, los anticuerpos de individuos infectados por *Klebsiella* son capaces de montar una respuesta en contra la bacteria por estas proteínas identificadas, características necesarias para el diseño de una vacuna exitosa.

Agradecimiento. Al fondo CB-2014-240185, por el financiamiento de este proyecto.

Bibliografía.

1. Arena F, Henrici De Angelis L, D'Andrea MM, Cannatelli A, Fossati L, Di Pilato, Rossolini GM. 2017. A case report and literature review. *Virulence*, 8: 1900-1908.
2. Arias R, Rosado U, Vargas A, Grajales C. 2016. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 54: 20-24.
3. Blair J, Webber M, Baylay A, Ogbolu D, Piddock L. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13: 42.