

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR APLICADAS A LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA

Profesorado:

- Dr. Manuel Segovia Hernández (*) (msegovia@um.es, tel: 968 369227)
- Dr. Pedro Luis Valero Guillén (plvalero@um.es, tel: 868 887184 ó 968 367134)
- Dr. Tomás Rodríguez González (torogo@um.es, tel: 968 369227)
- Dra. Genoveva Yagüe Guirao (gyague@um.es, tel: 968 369227)

(*) Responsable de la asignatura

Créditos y distribución: Créditos totales 6 ECTS

- Teóricos: 1.0 ECTS (25 horas).
- Trabajo práctico en laboratorio: 1.0 ECTS (25 horas).
- Tutorías: 0.2 ECTS (5 horas).
- Evaluación: 0.2 ECTS (5 horas).
- Trabajo personal del alumno: 3.6 ECTS (90 horas).

Objetivos:

Tras superar la asignatura, el alumno deber ser capaz de:

- Elaborar, presentar en forma escrita y exponer públicamente un documento que, de forma resumida, incluya los fundamentos teóricos-prácticos y aplicaciones clínicas de técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica
- Acceder de forma autónoma a bibliografía específica sobre diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas y tipificación molecular de microorganismos.
- Describir la estructura general de un laboratorio de diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas, incluyendo la dinámica de trabajo, la tecnología utilizada, sus principales aplicaciones y la protección frente a riesgos biológicos.
- Describir métodos de extracción de ADN a partir de muestras clínicas y de cultivos puros de microorganismos para su utilización posterior en el diagnóstico microbiológico de diversas enfermedades infecciosas de etiología vírica y bacteriana.
- Describir y aplicar los protocolos de análisis molecular de carga viral y de determinación de resistencias frente a diversos anti-retrovirales en muestras de pacientes infectados por VIH.
- Describir y aplicar protocolos moleculares de detección y tipificación de VPH y VHC en muestras clínicas humanas.
- Describir y aplicar protocolos moleculares dirigidos a la detección e identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras clínicas, así como sus posibles resistencias a rifampicina e isoniazida.

Programa teórico:

- PCR convencional y PCR a tiempo real: Fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.
- Secuenciación de ADN. Fundamentos teóricos de los métodos de Sanger y pirosecuenciación. Otros métodos. Aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.

- ‘Arrays’. Fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones en Microbiología Clínica. Análisis, exposición y discusión de artículos científicos con aplicaciones concretas en el ámbito de la Microbiología Clínica.
- Técnicas de tipificación molecular de microorganismos: Electroforesis en campo de pulsos, RAPD, MLST, etc.
- Epidemiología molecular de microorganismos.

Programa práctico:

- Extracción de ADN de muestras clínicas de pacientes infectados con VIH, VHC, VPH y *Mycobacterium tuberculosis*.
- Determinación de la carga viral mediante PCR a tiempo real: VIH, VHC
- Análisis de resistencias a anti-retrovirales mediante secuenciación de ADN.
- Genotipado de VHC
- ‘Arrays’ de VPH.
- Identificación de *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR y determinación molecular de resistencias a rifampicina e isoniazida.

Trabajo personal del alumno:

- Estudio de los fundamentos teórico-prácticos de diversas técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica.
- Búsqueda autónoma de bibliografía sobre aplicaciones concretas y actualizaciones en el campo de la Microbiología Clínica.
- Revisión crítica de artículos sobre aplicaciones de técnicas moleculares en Microbiología Clínica.
- Elaboración de memoria escrita sobre fundamentos teórico-prácticos y aplicaciones de técnicas de biología molecular en Microbiología Clínica.
- Elaboración de una memoria escrita con los contenidos prácticos de la asignatura.
- Exposición oral de las memorias elaboradas.

Bibliografía:

Revisiones científicas:

-PCR:

- Espy MJ y cols. 2006. Clin. Microbiol. Rev. 19: 165-256.
- Valasek MA y Repa JJ. 2005. Avd. Physiol. Educ. 29: 151-159.

-Microarrays:

- Ehrenreich A. 2006. Appl. Microbiol. Biotechnol. 73: 255-273.
- Dharmadi Y, González R. 2004. Biotechnol. Prog. 20: 1309-1324.

-Secuenciación:

- Clarridge III JE. 2004. Clin. Microbiol. Rev. 17: 840-862.
- Patel JB. 2001. Mol. Diag. 6: 313-321.
- Metzcker ML. 2005. Genome Res. 15: 1767-1776.
- Shendure J y Hanlee J. 2008. Nature Biotechnol. 26: 1135-1145.

Diagnóstico molecular en general:

- Procop GW. 2007. Clin. Infect. Dis. 45: 99-111.
- Tenover FC. 2007. Clin. Infect. Dis. 44: 418-423.

Libros de texto y monografías sobre los temas que integran los contenidos del curso:

- Murray PR (ed.in chief). 2005. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press. Washington.
- Reddy C.A. y cols. (eds.). 2007. Methods for General and Molecular Microbiology. ASM Press, Washington.
- Persing D.H. y cols. (eds.) 1993. Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice. ASM Press, Washington.
- Monografías específicas sobre protocolos de diagnóstico molecular de infección por *Mycobacterium*, VIH, VHC, VHB y VPH de la sección de Biología Molecular del Servicio de Microbiología del HUVA-Murcia

Artículos y revisiones de interés (exposición y análisis en el aula, curso 2008-2009):

- Fukushima M. et al. 2003. Detection and Identification of *Mycobacterium* Species Isolates by DNA Microarray. J. Clin. Microbiol. 41: 2605-2615.
- Morozumi M. y cols. 2006. Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumonia by real-time PCR with pathogen-specific molecular beacon probes. J. Clin. Microbiol. 44: 1440-1446.
- Schurman T. y cols. 2004. Prospective study of use of PCR amplification and sequencing of 16s ribosomal dna from cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis in a clinical setting. J. Clin. Microbiol. 42: 734-740.
- Yam W.C. y cols. 2004. Direct detection of rifampin-resistant *mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens by PCR-DNA sequencing. J. Clin. Microbiol. 42: 4438-4443.
- Pérez F. y cols. 2007. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. 51: 3471-3484.
- Speers DJ. 2006. Clinical applications of molecular biology in infectious diseases. Clin. Biochem. Rev. 27: 39-51.
- Hillemann D y cols. 2007. Evaluation of the genotype MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Myocbacterium tuberculosis* strains in clinical samples. J. Clin. Microbiol. 45: 2635-2640.
- Deurenberg RH y cols. 2007. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin. Microbiol. Infect. 13: 222-235.
- Fox A y cols. 2007. Standarized nonculture techniques recommended for European reference laboratories. FEMS Microbiol. Rev. 31: 84-88.

Metodología:

- Clase magistral en aula para exposición de fundamentos teóricos.
- Seminarios en aula para análisis y exposición de revisiones y artículos científicos y para exposición de memorias teórico-prácticas.
- Trabajos prácticos tutorizados por el profesorado en el laboratorio de Biología Molecular (Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca).

Evaluación: Se aplicarán los criterios numéricos habituales.

- Calidad de los resúmenes sobre fundamentos teórico-prácticos de las técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica: 50%.
- Calidad de la presentación oral sobre fundamentos teórico-prácticos de las técnicas moleculares con aplicación en Microbiología Clínica: 50%.
- Se tendrá en cuenta la participación activa en las clases por parte del alumno.