

38 Reacción en cadena de la polimerasa y análisis de restricción para identificar especies de micobacterias

Carolina López¹, Gloria Mejía², Ángela Guzmán²,
Jaime Robledo³

PALABRAS CLAVE

MICOBACTERIAS
IDENTIFICACIÓN
PCR
ENZIMAS DE RESTRICCIÓN

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Los métodos de rutina utilizados en el laboratorio para detectar e identificar micobacterias en muestras clínicas de pacientes con sintomatología sospechosa pueden tardar varias semanas, ya que son complejos y requieren un crecimiento adecuado en cultivo para ser completados. Actualmente se buscan métodos alternativos que permitan diagnosticar infecciones causadas por micobacterias de una manera más rápida y confiable, debido al incremento en la aparición de enfermedades causadas por estos microorganismos y a la diferencia en el tratamiento efectivo para cada una de ellas. Este estudio busca evaluar el método molecular descrito por Telenti (1), para identificar especies de micobacterias, aplicando una reacción en cadena de polimerasa (PCR) y digestión con enzimas de restricción.

METODOLOGÍA

Se realizará una PCR de ADN extraído de diferentes cepas de micobacterias de diferentes especies, previamente identificadas por

métodos clásicos y bioquímicos, se amplificará un fragmento del gen hsp65, utilizando los iniciadores Tb11 y Tb12. Luego se digerirá parte del producto de la amplificación con las enzimas HaeIII y BstEII por separado, y finalmente se sembrarán las digestiones en gel de agarosa para analizar los patrones resultantes.

RESULTADOS ESPERADOS

Se espera encontrar patrones de restricción muy similares para todas la cepas de una misma especie, y diferencias entre los patrones de las especies, que permitan diferenciarlas entre sí. Podrá establecerse, entonces, un algoritmo de identificación, comparable con otros reportados en la literatura (1, 2).

DISCUSIÓN

La reacción en cadena de la polimerasa y el análisis de restricción son métodos relativamente sencillos y muy rápidos, que podrían dar una solución costo-efectiva al problema del diagnóstico de enfermedades causadas por micobacterias. Los resultados de este estudio servirán para evaluar el uso de este protocolo en particular, y corroborar si vale la pena un estudio más a fondo que utilice las muestras clínicas directamente de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. TELENTI A, MARCHESI F, BATZ M, BALLY F, BÖTTGER EC, BODMER T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 1993; 31:175-178.
2. DEVALLOIS A, GOH KS, RASTOGI N. Rapid identification of mycobacteria to species level by restriction length polymorphism analysis of the hsp65 gene and proposition of an algorithm to differentiate 34 mycobacterial species. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2.969-2.973.

.....
¹ Estudiante de Medicina, Internado, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana.
² Bacterióloga, Sección de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas.
³ Jefe de la Sección de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas.
broeken@epm.net.co