

M-17

DETECCIÓN DEL COMPLEJO *Mycobacterium tuberculosis* EN MUESTRAS DE ESPECTORACIÓN MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN IS6110

Yajaira Guevara Molina,¹ Wendy Cruz Pulido,¹ Prisco Palma Nicolás,² Anabel Bocanegra Alonso,¹ Gildardo Rivera Sánchez,¹ Virgilio Bocanegra García.¹

¹Departamento de Biología Molecular y Bioingeniería. U. A. M. Reynosa-Aztlán. U. A. T., ²Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. México D.F.

Palabras clave: Tuberculosis, PCR, IS6110, expectoración.

Introducción: La tuberculosis pulmonar es una enfermedad infecto-contagiosa, generalmente de evolución crónica que se transmite por vía respiratoria al toser o estornudar. En humanos es causada principalmente por el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, aunque algunas especies del complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* pueden ser causa de enfermedad pulmonar en individuos inmunosuprimidos, particularmente en los que padecen SIDA.¹ El método mas utilizado para el diagnóstico definitivo de tuberculosis continúa siendo el aislamiento de la micobacteria a partir de las secreciones del paciente. El cultivo presenta la ventaja de poder combinarse con pruebas bioquímicas de susceptibilidad a antimicrobianos, pero tiene el inconveniente de que *M. tuberculosis* requiere de unas seis semanas para crecer en los medios de cultivo convencionales. Por otro lado, los métodos moleculares tienen la ventaja de permitir la identificación precisa de todas las especies de importancia clínica del género *Mycobacterium* que son causa de infección en humanos. Mas aún, dichas estrategias permiten la identificación del patógeno directamente en las secreciones del paciente, lo que evita el tener que esperar seis semanas de cultivo para emitir un diagnóstico definitivo; uno de las regiones que se amplifican mas comúnmente para este propósito es la región IS6110.^{2,3}

Objetivo: Detección directa del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en muestras de expectoración mediante la amplificación de la región IS6110.

Metodología: Se llevó a cabo la detección de la región IS6110 en DNA extraído de muestras de expectoración que habían sido positivas para la tinción de Ziehl-Neelsen. La PCR se estandarizó para obtener las condiciones óptimas de amplificación utilizando los iniciadores: IS6110 F-CCTGCGAGCGTAGGCGTCGG IS6110 -R-TCGTCCAGCGCCGCTTCGG, generando un amplicón de 123 pb. La extracción de DNA a partir de las muestras de expectoración se llevó a cabo mediante el método CTAB modificado.

Resultados: Se logró la amplificación directa de la región IS6110 a partir de muestras de expectoración positivas para la tinción de Ziehl-Neelsen. Los resultados se muestran en la figura 1. Se tuvieron que utilizar cantidades de DNA total de entre 1000 y

1400 ng para lograr una detección adecuada, esto debido a la sobre-representación del DNA humano.

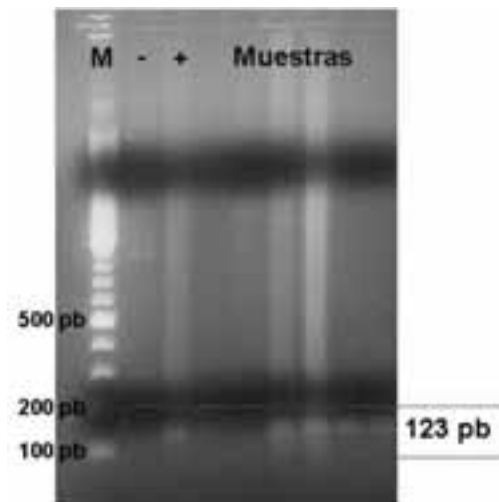


Figura 1. Detección de la región IS6110 a partir de DNA de muestras de expectoración positivas para la tinción de Ziehl-Neelsen. El carril 1 es el marcador, el carril 2 el control negativo, el carril 3 el control positivo y los carriles del 4 al 9 son muestras.

Conclusiones: Se logró la detección directa de la región IS6110 en DNA extraído a partir de muestras de expectoración positivas a la tinción de Ziehl-Neelsen.

REFERENCIAS

1. Glynn RJ, Whiteley J, Bifani PJ, Kremer K, van Soolingen D. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: A systematic review. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 843-849.
2. Caws M, Drobniewski FA. Molecular techniques in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* and the detection of drug resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 953: 138-145.
3. Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, Haas WH, Hermans PWM, Martin C, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2607-2618.