

ESTUDIO MOLECULAR MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA Y ANÁLISIS DE HETERODUPLEX PARA EL GEN DE LA RESISTENCIA A LA RIFAMPICINA EN *Micobacterium tuberculosis*

SALCEDO, P.¹, VILLEGAS, S.¹, VÉLEZ, S.¹, ARANGO, A. I.¹, GÓMEZ, Y.^{1,2}

¹ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina.

Universidad de la Sabana. ² Unidad de Genética,

Instituto de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina.

Universidad del Rosario. Bogotá. ymgomez@claustro.urosario.edu.co

INTRODUCCIÓN

El *Micobacterium tuberculosis*, es un bacilo intracelular gramnegativo, facultativo, no esporulado, aerobio estricto, de crecimiento lento y que requiere medio de cultivo complejo para su aislamiento y caracterización. La tuberculosis es una infección que cursa con diversas manifestaciones clínicas teniendo como órgano blanco el pulmón y amplia distribución mundial. El bacilo muestra resistencia o multiresistencia a los tratamientos convencionales. El objetivo del presente trabajo, mediante PCR y el análisis de Heteroduplex de una región del gen rpoB de *M. tuberculosis*, es detectar las cepas resistentes a la rifampicina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Participaron en el estudio 50 muestras provenientes de hospitales de III nivel de Bogotá, caracterizadas previamente por microbiología como *M. tuberculosis*. Se tomó una asada del cultivo en medio de Lowenstein-Jensen y se extrajo el ADN bacteriano mediante perlas de vidrio. Se tomó como control positivo de resistencia la cepa ATCC 35838 y como control negativo la cepa H37Rv; como control de locus una cepa de *Brucella spp.* Se usaron los primers reportados previamente en un volumen de PCR de 50 µl. La amplificación se realizó en un termociclador automático programable así: desnaturalización 94°C por 1 minuto, alineamiento 60°C por 1 minuto y extensión 72°C por 11/2 minutos, durante 30 ciclos. El análisis del genotipo resistente se identificó mediante el análisis de heteroduplex, comparando las muestras problema frente a las cepas control en geles PAGE al 8% y tinción de plata.

RESULTADOS

De las cepas analizadas, 33 % se consideraron resistentes por mostrar dos bandas, una a 411pb y otra entre 400 y 420pb, las cepas sensibles solo presentaron una banda a 411pb.

DISCUSIÓN

En la metodología propuesta para la amplificación del gen rpoB del genoma de *M. tuberculosis* y el análisis por heteroduplex, observamos mayor rapidez, sensibilidad y especificidad que en los métodos tradicionales de diagnóstico para el análisis de susceptibilidad a rifampicina.