



## ARTÍCULO ORIGINAL

# Establecimiento de una reacción en cadena de la polimerasa para la detección de bacterias y hongos



Héctor Javier Pérez-Cano\*

Centro de Investigación Biomédica, Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P., México D.F., México

Recibido el 20 de agosto de 2013; aceptado el 12 de diciembre de 2013

Disponible en Internet el 2 de abril de 2014

### PALABRAS CLAVE

Reacción en cadena de la polimerasa;  
Reacción en cadena de la polimerasa anidada;  
Conjuntivitis bacteriana;  
Queratitis bacteriana;  
Queratitis fúngica;  
Lentes de contacto

**Resumen** Los métodos de laboratorio utilizados para el diagnóstico de blefaritis, conjuntivitis y queratitis incluyen desde exámenes en fresco para búsqueda de parásitos, tinciones hasta cultivos microbiológicos que pueden durar hasta 2 semanas para obtener el resultado.

**Objetivo:** Implementar una PCR para la detección de hongos y bacterias grampositivas y gramnegativas utilizando un método reportado previamente y adaptado a las condiciones del laboratorio de biología molecular del Centro de Investigación Biomédica de La Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P. (CIB-HOL) utilizando el termociclador Axygen/Maxygene.

**Métodos:** Se realizó una extracción de ADN de cultivos microbiológicos de bacterias grampositivas, gramnegativas y hongos. Se hicieron diluciones seriadas para determinar la sensibilidad del método. Se realizó PCR para hongos y bacterias. Se buscaron las condiciones en común para realizar la PCR en un solo paso.

**Resultados:** Utilizando las diluciones del ADN se obtuvo producto de amplificación utilizando una cantidad de 0.12 ng de ADN bacteriano y de 0.15 ng de ADN fúngico.

**Conclusiones:** La técnica de la PCR es una herramienta muy importante para la detección de ADN de bacterias y hongos causantes de infecciones oculares. Permite amplificar el material genético del agente etiológico y facilita su observación, obteniéndose los resultados en menor tiempo que con las técnicas convencionales.

© 2013 Sociedad Mexicana de Oftalmología. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia: Centro de Investigación Biomédica, Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P., Ezequiel Montes n.º 135, Col. Tabacalera, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06030, México, D.F.

Correo electrónico: [drhctorpc@gmail.com](mailto:drhctorpc@gmail.com)

**KEYWORDS**

Polymerase chain reaction;  
Nest polymerase chain reaction;  
Bacterial conjunctivitis;  
Bacterial keratitis;  
Fungal keratitis;  
Contact lens

### Establishment of a polymerase chain reaction for detection of bacteria and fungi. Importance for the diagnosis of ocular infectious diseases

**Abstract** Laboratory methods used for the diagnosis of blepharitis, conjunctivitis and keratitis ranging from fresh examinations to search for parasites, gram stain and microbiological cultures, can last up to two weeks to get the result.

**Objective:** To implement a PCR for the detection of fungi and gram-positive and gram-negative bacteria using a previously reported method adapted to the molecular biology lab at Biomedical Research Center, Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P. (CIB-HOL), using the thermocycler Axygen/Maxygene.

**Methods:** DNA from microbial cultures of Gram positive, Gram negative and fungi were obtained for the PCR. Serial dilutions were performed to determine the sensitivity of the method. PCR was performed for fungi and bacteria. We searched for common conditions for PCR in one step  
**Results:** When we used dilutions of DNA, the PCR was sensitive to 0.12 ng to DNA bacterial and 0.15 ng to DNA fungal.

**Conclusions:** The PCR technique is a very important molecular biology tool to detect DNA from bacteria and fungi responsible of the ocular infections. This method allows amplifying the genetic material of the etiologic agent and the results are obtained in less time than using conventional techniques.

© 2013 Sociedad Mexicana de Oftalmología. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

## Introducción

El ojo es el órgano responsable de la captación de la luz, que es el proceso inicial de la visión, y por su posición anatómica está constantemente expuesto a una variedad de patógenos. Sin embargo, cuenta con un sistema de producción de sustancias, entre ellas la lágrima que contiene una gran cantidad de compuestos químicos, como citocinas, enzimas, lípidos y electrólitos capaces de formar una barrera inmunológica para detener cualquier microorganismo que pudiera generar una infección<sup>1</sup>. El origen de una infección ocular puede ser producto de un trauma, cirugía, uso de lentes de contacto y otras enfermedades en las cuales el sistema inmunológico se encuentra comprometido, facilitando el desarrollo de los agentes causales. Las infecciones oculares son producidas por bacterias, hongos, virus o parásitos. Existen muchos tipos de infecciones oculares, y entre las más comunes podemos mencionar la conjuntivitis, la queratitis y la blefaritis o inflamación crónica de los párpados, mayoritariamente producida por estafilococos<sup>2-4</sup>.

Las infecciones oculares son una causa importante de morbilidad ocular en todo el mundo, con potencial riesgo de pérdida de la visión e incluso de la integridad ocular. La severidad depende tanto de las condiciones subyacentes del paciente como de la patogenicidad del agente infeccioso<sup>3,5</sup>. La conjuntivitis bacteriana, por ejemplo, se caracteriza por hiperemia conjuntival de inicio unilateral rápido acompañado de edema palpebral y secreción mucopurulenta. La infección a menudo se vuelve bilateral a los 2 días del inicio del padecimiento. Su incidencia es difícil de determinar debido a que la mayor parte de los pacientes no acuden a la ayuda profesional y se tratan empíricamente, lo que en ocasiones puede agravar la dolencia<sup>2,5</sup>. Otro padecimiento importante que pone en riesgo la salud visual es la queratitis asociada al uso de lentes de contacto. Existen reportes en los que se señala que la incidencia

es de 30 a 60 por 10,000 ojos al año, o 1:200 a 1:500 usuarios por año<sup>5</sup>. Las bacterias que con mayor frecuencia producen queratitis asociada al uso de lentes de contacto son los bacilos gramnegativos, principalmente *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y *Serratia marcescens*, aunque también puede estar involucrado *Proteus vulgaris* o *Proteus mirabilis*, así como bacterias grampositivas, entre ellas *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), incluso levaduras del género *Candida* y amebas del género *Acanthamoeba* y en menor frecuencia los hongos filamentosos. La incidencia de queratitis en usuarios de lentes de contacto es muy baja, pero ocasionalmente los microorganismos pueden ser hallados en las soluciones y/o en los mismos lentes<sup>5-9</sup>.

Las cirugías oculares que involucran a la córnea tienen un cierto riesgo de infección por microorganismos que normalmente habitan en la superficie ocular. Se ha reportado que los microorganismos aislados con mayor frecuencia son bacterias grampositivas ocupando el primer lugar en frecuencia *S. epidermidis*, que proviene de la flora habitual de la superficie ocular<sup>5,10,11</sup>.

Existen otras enfermedades que están relacionadas con el riesgo de infección ocular. Entre las enfermedades que involucran la alteración del epitelio corneal podemos mencionar las enfermedades autoinmunes como la orbitopatía tiroidea, el síndrome de Sjögren y el penfigoide, entre otras. Las enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus, las collagenopatías, el síndrome metabólico o los padecimientos que involucran un sistema de inmunosupresión también predisponen al desarrollo de queratitis infecciosa debido a la disminución de la defensa humoral y/o celular<sup>5,12-14</sup>.

En general, los microorganismos que han sido implicados como agentes causales de conjuntivitis, blefaritis y queratitis infecciosa son de origen bacteriano, predominando los grampositivos<sup>5</sup>. Los hongos representan alrededor del 5-30%

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4032262>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4032262>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)