

Utilidad de patrones polimórficos obtenidos por RAPD para discriminar Coccidioides immitis y C. posadasii

Esperanza Duarte Escalante¹, Isai Victoriano-Pastelin¹, Beatriz Meraz-Ríos ¹, María Guadalupe Frías-De-León ², Erika Paola Sánchez Saavedra¹, Diana Laura García Carrera ¹, Carlos Eduardo Benítez-Moreno ¹ y María del Rocío Reyes-Montes¹

1 Facultad de Medicina, UNAM, 2 Hospital regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca. dupe@unam.mx

La coccidioidomicosis es causada por Coccidioides immitis y C. posadasii, ésta enfermedad destaca como una de las micosis endémicas más importantes de Norteamérica, sin embargo, su incidencia es desconocida en nuestro país porque no es una enfermedad de reporte obligatorio. Las manifestaciones clínicas de la coccidioidomicosis pueden ser confundidas con las generadas por otras entidades nosológicas producidas por otros hongos o bacterias, lo que dificulta su diagnóstico, haciendo que la identificación temprana del agente causal sea de gran importancia para el tratamiento del paciente. El diagnóstico convencional, se realiza principalmente a través del cultivo, histopatología y serología, sin embargo, estos métodos presentan limitaciones, por lo que se han desarrollado métodos moleculares que permiten obtener un resultado rápido. No obstante, la mayoría de éstos no discriminan a nivel de especie. Por lo que es importante la búsqueda de otros marcadores moleculares para la consolidación de la información epidemiológica de esta micosis en México. Objetivo: Discriminar *C. immitis* y *C. posadasii* a través de patrones polimórficos obtenidos por RAPD. Materiales y métodos: Aislados: Se utilizaron 9 aislados de C. immitis y 9 de C. posadasii, previamente identificados de acuerdo a sus características feno y genotípicas. RAPD-PCR. A partir de los cultivos monospóricos de los aislados incluidos en el estudio, se obtuvo el DNA de cada aislado con el Wizard® genomic DNA Purification Kit (Promega) según el protocolo del fabricante. El método de RAPD, se llevó a cabo según Kersulyte et al. (1992) y Woods et al. (1993) y se utilizaron 22 iniciadores. Las condiciones para la PCR fueron: 10 ng de DNA genómico, 100 pmoles de cada iniciador, 2.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP (Applied Biosystems Inc.) y 1 U de Taq DNA polimerasa (Applied Biosystems) en amortiguador 1X, en un volumen final de reacción de 25 ml. Resultados y discusión. De todos los iniciadores probados, solo tres (OPA13, OPG13 y OPC06) mostraron un patrón polimórfico distintivo para los aislados de C. immitis, y de C. posadasii. Conclusión. El RAPD es técnica reproducible y ha demostrado ser útil para la discriminación de especies del género Coccidioides, usando los iniciadores OPA13, OPG13 y OPC06, ya que ha evidenciado patrones especie-específicos. Además, la identificación de las especies es importante para una mejor comprensión de la epidemiología de la coccidioidomicosis en México. **Agradecimiento**: FM/DI/068/2017.