



# **Universidad del Sureste**

## **Escuela de Medicina**

**Materia:**

**Genética humana.**

**Mapa conceptual.**

**Tema: TECNICAS MOLECULARES.**

**Docente: Hugo Nájera Mijangos**

**Alumno: Edwin Dionicio Coutiño Zea**

**Lugar y fecha**

**Comitán de Domínguez Chiapas a 29/10/2021.**

# TECNICAS MOLECULARES.

El descubrimiento de la PCR, la clonación, la secuenciación y la tecnología de detección por fluorescencia, así como la accesibilidad a una gran cantidad de información en la web ayudó al desarrollo de nuevas herramientas moleculares, cuyo uso ha aumentado enormemente la habilidad para detectar y cuantificar bacterias patógenas en agua y alimentos, entre estas, muchas bacterias emergentes.

## REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA.

Técnica de diagnóstico molecular más ampliamente utilizada.

2-3 h son necesarias para completar una PCR.

Se basa en el principio de complementariedad bases del ADN y en la participación de la enzima polimerasa que permite la extensión del fragmento a amplificar, agregando nucleótidos en secuencia complementaria al ADN molde por medio de un proceso cíclico que comprende tres pasos: desnaturalización, hibridación y extensión.

## AMPLIFICACIÓN BASADA EN LA SECUENCIA DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

Menos desarrollada que la PCR.

Se requirió más de  $5 \times 10^3$  células, y la reacción tampoco diferenció el ARN del ADN, reduciendo así la ventaja principal del NASBA para la detección de células vivas solamente.

La sensibilidad del ensayo NASBA a tiempo real fue pobre, durante la detección de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en muestras de leche artificialmente inoculadas.

## ELECTROFORESIS EN GEL DE CAMPO PULSADO.

Manera de separar moléculas grandes de DNA. En este método, el DNA viaja a través de un gel de agarosa concentrado, bajo la influencia de dos campos eléctricos. Los dos ángulos de los campos eléctricos se encuentran cerca de la perpendicularidad, no son uniformes en la intensidad de campo y cambian de manera

Utilizado para la caracterización de *Salmonella*, *Listeria* y otros patógenos de transmisión alimentaria.

La PFGE también ha sido extensamente utilizada a nivel mundial para la vigilancia e investigación de los brotes de *E. coli*.

## BIOSENSORES.

Estos sensores se han desarrollado utilizando ADN, técnicas inmunológicas y péptidos de fagos.

Los biosensores ópticos que utilizan una señal fluorescente son los más comunes. Sin embargo, los biosensores que utilizan transductores distintos a los ópticos se han desarrollado para la detección específica de *Salmonella*. Utilizaron bacteriófagos específicos para *Salmonella typhimurium*.

En este biosensor, la captura de las bacterias por parte de bacteriófagos adsorbidos a un transductor piezoeléctrico dio lugar a un cambio de frecuencia en la resonancia, la cual fue medida con un dispositivo de onda acústica utilizaron un anticuerpo enlazado a la superficie de un cristal de cuarzo recubierto con oro, con un electrodo de oro como biosensor.

# TECNICAS MOLECULARES.

El descubrimiento de la PCR, la clonación, la secuenciación y la tecnología de detección por fluorescencia, así como la accesibilidad a una gran cantidad de información en la web ayudó al desarrollo de nuevas herramientas moleculares, cuyo uso ha aumentado enormemente la habilidad para detectar y cuantificar bacterias patógenas en agua y alimentos, entre estas, muchas bacterias emergentes.

## MICROARREGLOS.

Los microarreglos consisten en un gran número de sondas inmovilizadas sobre una superficie sólida. Tras los pasos de hibridación y lavado, el ácido nucleico enlazado a las sondas genera un patrón de fluorescencia que es entonces registrado y analizado utilizando un escáner.

La identificación molecular por microarreglos se ha demostrado para E. coli. A partir de cultivos, tras la amplificación por PCR de los genes blanco. En el caso particular de este último microorganismo, la detección e identificación fue realizada en muestras de leche completa pasteurizada adulterada, utilizando este enfoque.

## PIROSECUENCIACIÓN 454: UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA LA DETECCIÓN DE PATOGENOS EN ALIMENTOS Y MEDIOAMBIENTE.

Con estas nuevas tecnologías, los genomas pueden ser completamente secuenciados en semanas, en lugar de años, debido a que esta metodología no requiere bibliotecas de ADN, ni clones, solo el ácido nucleico aislado.

Esta secuenciación ha ampliado el repertorio de los genomas bacterianos secuenciados, incluyendo múltiples cepas patógenas, y ha ayudado a identificar los agentes potenciales, bacterianos, protozoarios o virales, asociados con enfermedades de etiología desconocida, las cuales constituyen una tercera parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos en los Estados Unidos.

## Ventajas.

La identificación de los patógenos de transmisión alimentaria mediante métodos moleculares se ha vuelto cada vez más popular en aspectos de calidad y seguridad, y en la producción de alimentos, debido a que estas técnicas suelen ofrecer muchas ventajas. La PCR, una de las técnicas más utilizadas en la detección e identificación de bacterias causantes de ETA, es fiel exponente de tales alcances; presenta rapidez, buen límite de detección, especificidad y sensibilidad.

## Limitaciones.

Estas técnicas también son relativamente complicadas; necesitan experticia y utilizan productos químicos peligrosos, por lo que el análisis rutinario de muchas muestras resulta poco práctico.

## Referencias.

- Carolina Palomino-Camargo I y Yuniesky González-Muñoz. (2014). Recuperado de <https://www.scielosp.org/article/rpmesp/2014.v3I n3/535-546/>
- Maritza Angarita MerchánI, María Inés Torres CaicedoII, Andrea Katherine Díaz TorresIII. (2017). Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2017000500012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000500012)
- Ángela María Cardozo-Bernal, Luisa Fernanda Ramón, Raúl A. Poutou-Piñales, Ana K. Carrascal-Camacho, Diana Corina Zambrano. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v18n2/v18n2a08.pdf>