

56 ¿Es *Paracoccidioides brasiliensis* un grupo monofilético?

Beatriz Montes¹, Juan Mcewen²

PALABRAS CLAVE

PARACOCIDIODES BRASILIENSIS
GRUPO MONOFILÉTICO
ANÁLISIS FILOGENÉTICO

INTRODUCCIÓN

Paracoccidioides brasiliensis es un hongo dimórfico térmico causante de la paracoccidioidomicosis, micosis de alta prevalencia en América Latina. Colombia ocupa el segundo lugar en endemicidad, después de Brasil. Su presentación clínica es, usualmente, de carácter crónico y en ausencia de una terapia efectiva la paracoccidioidomicosis progresa y puede ser letal en muchos casos (1). Actualmente el *Paracoccidioides* se ha considerado un grupo homogéneo y se le ha identificado la especie *brasiliensis* como única. Sin embargo, varios estudios han demostrado variaciones genéticas que han permitido agrupar las cepas de acuerdo con su origen geográfico, pero no se conoce si estas variaciones puedan generar o ser el producto de especies aisladas geográficamente (2). Adicionalmente, se ha mostrado una correlación entre patrones de RAPD de los aislamientos clínicos del hongo y su habilidad para causar enfermedad experimental de diferente severidad (3). Estos hallazgos sugieren que *P. brasiliensis* podría estar distribuido en diferentes grupos monofiléticos.

OBJETIVO

Determinar si *Paracoccidioides brasiliensis* es un grupo monofilético.

METODOLOGÍA

1. Colección de *P. brasiliensis*
Se emplearán 50 cepas de *P. brasiliensis*, clínicas y ambientales provenientes de Colombia, Brasil, Venezuela, entre otros.
2. Extracción de ADN
A partir de cultivos del hongo en fase de levadura se extraerá el ADN usando técnicas previamente establecidas (3).

3. Hallazgo de loci polimórfico
Inicialmente se analizarán los siguientes genes: Glucan-sintasa, Proteína antigénica P27, Ornitina-decarboxilasa y el gen de la GP43. Para la identificación de polimorfismo se deben diseñar los cebadores en áreas conservadas que rodean regiones variables como intrones. Las condiciones de la PCR serán estandarizadas para cada par de cebadores y sus productos serán secuenciados utilizando ABI/Perking-Elmer 377.
4. Análisis filogenético
Las secuencias serán alineadas y comparadas utilizando paquetes de *software* específicos para el análisis de secuencias génicas. (Sequence Navigator V.1.01; Applied biosystems).
Los datos de la alineación se emplearán para hacer el análisis filogenético. Se usará parsimonia utilizando el programa PAUP versión 4.0.Od62. La matriz de datos se analizará asumiendo que los caracteres tienen igual peso y la búsqueda del árbol más parsimonioso por heurística.

RESULTADOS ESPERADOS

Esperamos establecer si *Paracoccidioides brasiliensis* es o no un grupo monofilético.

BIBLIOGRAFÍA

1. RESTREPO A. *Paracoccidioides brasiliensis*. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000: 2.768-2.772.
2. CALCAGNO AM, NIÑO-VEGA G, SAN-BLAS F, SAN-BLAS G. RFLP analysis reveals marked geographical isolation between strains of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Medical Mycology* 2000; 38: 437-441.
3. MOLINARI-MADLUM EEWI, SOARES CM, FELIPE MS. Virulence of *Paracoccidioides brasiliensis* isolates can be correlated to groups defined by random amplified polymorphic DNA analysis. *Medical Mycology* 1999; 37: 269-276.
4. VAN BURRIK J, SCHRECKHISE R, WHITE T, BOWDEN R, MYERSON D. 1998. Comparison of six extraction techniques for isolation of DNA from filamentous fungi. *Medical Mycology* 1998; 36: 299-303.

.....
Unidad de Biología Molecular, Corporación para Investigaciones Biológicas.

¹ Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas

² Profesor, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia
beatry7@hotmail.com