

**DIFERENCIACIÓN DE ESPECIE MICOBACTERIANA POR FT-IR
(Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier)**

JORGE ANDRÉS CUELLAR GIL



**UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y TECNOLOGICAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA
ARMENIA
2009**

**DIFERENCIACIÓN DE ESPECIE MICOBACTERIANA POR FT-IR
(Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier)**

Presentado por:

JORGE ANDRÉS CUELLAR GIL

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para obtener el título de Biólogo

DIRECTOR

Lic. SANDRA MILENA CORONADO RIOS M.Sc

Docente del Programa de Biología de la Universidad del Quindío

CO-DIRECTOR

Químico. Roberto Carlos Arrubla

Docente Encargado del Laboratorio de “Química Instrumental” del Programa de
Química de la Universidad del Quindío

UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS Y TECNOLOGICAS

PROGRAMA DE BIOLOGIA

ARMENIA

2009

“No os dejéis tentar por el escepticismo denigrante y estéril, no os dejéis desanimar por la tristeza de ciertas horas que pesan sobre las naciones. Vivid en la paz serena de los laboratorios y las bibliotecas. Preguntaos al empezar ¿qué he hecho yo por mi instrucción? Y a medida que avancéis en la vida ¿qué he hecho yo por mi patria? Hasta el momento en que acaso tengáis la inmensa dicha de pensar que habéis contribuido con algo al progreso y al bien de la humanidad... Más sean vuestros esfuerzos más o menos favorecidos por la vida, lo que importa es, cuando se acerca uno a la gran meta, tener derecho a decirse: he hecho cuanto he podido”.

Louis Pasteur

RESUMEN

La espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR) fue empleada para diferenciar 10 especies de *Micobacterias* de las cuales *M. intracellulare* y *M. fortuitum* fueron especies de referencia ATCC y *M. Flavensces*, *M. smegmatis*, *M. chelone*, *M. gordonae*, *M. triviale*, *M. vaccae*, *M. terrae*, *M. nonchromogenicum*, fueron de referencia del instituto Pasteur (IP), enviadas del Instituto de Medicina Tropical de Belgica. Como control de diferenciación de género se usaron las bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* y *Streptococcus pyogenes*; y gram negativas como: *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* ATCC, de cada una de las especies se utilizó triplicado bacterias en la prueba de KBr y ATR, se utilizó uno al azar en cada prueba, debido a que los tres espectros tomados, presentaban el mismo comportamiento espectral. El elegido se analizó según el método de Silverstein M. Robert *et al* 1999, Pavia L. Donald *et al.* 1996 y Chenxu Yu junto con Joseph Irudayaraj, luego se realizaron las primeras derivadas "Savitsky Golay" de KBr y en especial de ATR, para mostrar mas selectivamente las similitudes que hay dentro de los grupos (Micobacterias, gram negativas y gram positivas) y las diferencias en cada una de las especies. Además se realizó con base en la primera derivada del ATR una biblioteca espectral de todas las especies.

La sensibilidad de detección fue del 100% al trabajar bajo KBr, comparándose con el método molecular (PRA) y convencional, que reportan una sensibilidad de detección del 100% y una variación del 87.7% a 90.3% respectivamente; siendo la sensibilidad de detección por FT-IR, más alta en comparación con el método convencional. En cuanto el nivel de diferenciación fue del 100% en tres de las cuatro muestras problemas usadas, las que fueron correctamente identificadas por FT-IR como: *Mycobacterium godonae*, *Mycobacterium vaccae* y *E. coli*, para la ultima muestra problema se obtuvo un porcentaje de identificación del 86,20% en la prueba de ATR y 86,22% en la primera derivada de ATR, siendo esta ultima identificada como *Staphylococcus aureus*; a su vez según los reportes, el método molecular (PRA) y conveccional tienen un nivel de diferenciación del 91,5% a 96,7%, sin tener un reporte del 100% de diferenciación bacteriana, porcentaje que si se alcanzó con la técnica FT-IR; por lo tanto el FT-IR es una tecnica de facil aplicación, más selectiva y de bajo costo, apropiada para la identificacion bacteriana en el campo microbiologico.

Palabras claves: micobacterias, espectroscopia, infrarrojo, gram negativas, gram positivas y selectividad.