



Tulcán 15 de diciembre de 2021

PARA: Mgs. Marco Rubén Burbano Pulles

COORDINADOR DE INVESTIGACIÓN

ASUNTO: Informe implementación de laboratorio biología molecular

De mi consideración: En respuesta a su Memorando No UPEC-DIIN-2021-0486-M, con fecha, 13 de diciembre de 2021 en el cual solicita un Informe implementación de laboratorio biología molecular tengo a bien adjuntar a continuación la información requerida.

Antecedentes:

El desarrollo y uso de equipos de diagnóstico serológico y molecular para el diagnóstico y tipificación de microorganismos causantes de enfermedades infecciosas permite comprender los potenciales usos de la biología molecular en el campo de la salud pública, animal y vegetal, ya que la presencia de enfermedades parasitarias o infecciosas en varias ocasiones han causado graves problemas en la salud humana. Estos hechos han dado como resultado que las técnicas diagnósticas como biología molecular y serología se conviertan en instrumentos fundamentales para el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

Dentro del proyecto de investigación denominado: Técnica de reacción en cadena de polimerasa (qPCR) en tiempo real para el diagnóstico de enfermedades infecciosas y zoonóticas, uno de los objetivos planteados fue, la Implementación de un laboratorio de biología molecular para el diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas y zoonóticas en bovinos. Este objetivo ha sido cumplido y a continuación adjunto la evidencia fotográfica de los equipos que conforman este laboratorio.

OBJETIVOS:

- Implementar el laboratorio de biología molecular en la UPEC para el diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas y zoonóticas en bovinos.
- Diagnosticar enfermedades infecciosas y zoonóticas mediante el uso de PCR en tiempo real

MATERIALES:

Microscopio binocular con cámara: El microscopio digital binocular con cámara incorporada permite la observación bidimensional de objetos (cortes delgados de tejido animal o vegetal) ampliados entre 40 y 1000 veces. Además, permite el alojamiento de los objetos para una documentación ilustrada a través de fotos y secuencias de videos.

Espectrofotómetro de micro-volumenes para DNA, RNA y proteínas: Este equipo permite realizar medidas de espectrofotometría en un amplio rango de longitudes de onda (220-750 nm) con gran exactitud y reproducibilidad, sin necesidad de emplear cubetas. Tan sólo requiere un volumen de muestra de 1-2 μ l y gracias a su pequeño tamaño y fácil manejo permite medir un gran número de muestras en poco tiempo. Su funcionamiento se basa en el empleo de un sistema de retención de muestra que aprovecha la tensión superficial para formar un puente de líquido entre el pedestal inferior y un pedestal superior. En los espectrofotómetros NanoDrop el pedestal superior es el extremo de una fibra óptica conectada a una fuente de emisión de Xenon. Ambos pedestales definen un preciso y estrecho paso óptico cuya longitud varía automáticamente con la concentración de la muestra, permitiendo hacer mediciones en un rango muy amplio de concentraciones sin hacer diluciones. Esta característica lo hace idóneo para determinar la concentración y pureza de los ácidos nucleicos.

Estufa de flujo forzado: La estufa de laboratorio es un instrumento

que se usa para secar y esterilizar recipientes de vidrio, los cuales provienen de un lavado de laboratorio. Es decir que esta cámara con cavidad, la cual tendrá una mayor temperatura a la del ambiente, quitará toda la humedad del recipiente de metal o vidrio.

La esterilización que se hace efectiva dentro de esta estufa es denominada calor en seco y solo se realiza con temperatura de 180 grados Celsius durante el tiempo de 2 horas. El proceso de este es que el vidrio al ser calentado, por un aire de temperatura alta, elimina la posibilidad que se encuentre cualquier actividad biológica.

Las estufas tienen distintos usos dentro de un laboratorio, destacando por usarse con los implementos de vidrio o metal del laboratorio. También son usadas para realizar trabajos de manipulación y esterilización a distintos elementos biológicos con el fin de obtener un resultado específico.

Agitador de tubos vortex – mixer: Diseñado para la mezcla de muestras en una variedad amplia de usos. Se puede usar con frascos, vasos, tubos, y placas de micro posiciones. Construido usando una base pesada resistente a la corrosión, la unidad es estable en la superficie de trabajo.

Tienen un control variable de velocidad a partir de 100–3200rpm, que permite el arranque bajo de RPM para la agitación o mezcla de alta velocidad para muestras.

Las unidades pueden funcionar en modo táctil al presionar la parte superior o en un modo continuo. Los modelos ofrecen un interruptor de tres vías y una perilla de velocidad con las marcas de dial variable 1 a 10 velocidades.

Listado por la UL y C-UL. Marcado por la CE.

Tiempo real cualitativo exicycler tm 96 más ups: Exicycler™ El Bloqueo Térmico Cuantitativo en Tiempo Real es una tecnología patentada de detección simultánea de 96 pozos que utiliza la tecnología LT (Light Tunnel) que emite una luz de excitación uniforme, un método de bloqueo de la luz de excitación que utiliza luz polarizada y un sensor 2D. Y es un instrumento de amplificación de genes en tiempo real que minimizó la sensibilidad óptica y la desviación entre pozos. El bloque térmico está diseñado en un formato de bajo perfil de 96 pozos, lo que minimiza el volumen de la solución utilizada en la reacción de PCR y reduce el tiempo de reacción de PCR

La prueba se basa en la reacción en cadena de la ADN polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) donde un fragmento de ADN conocido es copiado y amplificado billones de veces. El producto del PCR (punto final) es posteriormente visualizado en un gel de agarosa y proporciona evidencia cualitativa de la presencia de ese fragmento de ADN en la muestra.

La PCR en tiempo real es una modalidad del PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectado y cuantificado

a medida que la reacción avanza, es decir: “En tiempo real” esto se logra incorporando una molécula fluorescente que se asocia al ADN amplificado, donde el incremento de esta fluorescencia es la proporcional al incremento de la cantidad de moléculas de ADN amplificadas en la reacción.

Agitador de placas: Los agitadores de laboratorio o mezcladores crean un movimiento entre líquidos o entre líquidos y sólidos con el fin de alcanzar procesos de mezcla, suspensión, dispersión, homogenización, transferencia de calor, etc. En la actualidad, se emplean sistemas de agitación (agitadores) en todos los laboratorios, ya sean de química, biología. Un agitador típico dispone de una placa o superficie donde se colocan vasos, tubos o matraces Erlenmeyer con los líquidos que van a ser agitados. La agitación se efectúa de diferentes formas, en función del tipo de agitador que se emplee.

Transiluminador: Un transiluminador es un equipo de laboratorio biomédico que es utilizado con el fin de detectar las biomoléculas de una muestra, específicamente el ADN, ARN y proteínas presentes. Estas biomoléculas son las encargadas, entre otras cosas, de otorgar a los seres humanos características definitorias como el color de los ojos y también son esenciales para el correcto funcionamiento del organismo.

Al ser estas moléculas invisibles al ojo humano, es necesario utilizar un transiluminador, en conjunto con una técnica de coloración para poder observarlas. El transiluminador genera altos niveles lumínicos que atraviesan la superficie en donde está posicionada la muestra, lo que produce un color específico que es visible para el ojo humano. Es común que se complemente el uso de este equipamiento con una cámara de electroforesis, en la cual se prepara el gel donde estarán las biomoléculas con la coloración ya aplicada. Cada color representará una agrupación de estas moléculas.

Centrífuga con refrigeración con rotor de tubos: La centrífuga refrigerada Centrífuga 5424 R es el estándar de laboratorio cuando se trata de rendimiento de refrigeración eficiente (es decir, enfriamiento rápido de la temperatura ambiente a la temperatura establecida) con un diseño muy ergonómico. Cuenta con tecnología de enfriamiento de última generación para asegurar una alta exactitud de temperatura para una máxima protección de las muestras y los mejores resultados de separación. Ideal para el uso diario en el laboratorio.

Incubadora de 55 litros: El sistema de calentamiento de este

incubador está ajustado de forma óptima tanto para un sistema de convección natural. Por este motivo, el fin de calentar cargas muy valiosas con especial cuidado en los sectores farmacéutico, médico, de la investigación y la química de los alimentos.

Cabina de PCR con luz uv más ups: Estas cabinas especializadas proporcionan un entorno controlado para llevar a cabo experimentos de reacción en cadena de la polimerasa. Estos recintos incluyen un temporizador digital variable que proporciona exposición a la luz UV de forma continua o en incrementos seleccionados por el usuario de 5, 10, 15, 30, 60, 120 o 240 minutos para desactivar. Cuando expire el tiempo establecido, la luz UV se apaga automáticamente en para la preparación siguiente experimento.

CONCLUSIONES:

- En cuanto al alcance de los resultados del proyecto se cumplió con la implementación del laboratorio de biología molecular en la UPEC para el diagnóstico molecular, en lo que se refiere al diagnóstico de enfermedades zoonóticas se lo realizó en lo que se refiere al COVID - 19 misma patología que es de carácter zoonótico, este punto se convierte en un aspecto realizado no contemplado en el inicio del proyecto.

RECOMENDACIONES:

- Continuar en un nuevo proyecto de investigación en el área del diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas y zoonóticas en bovinos, ya que este es un campo muy amplio de estudio y que aun es escaso en nuestro medio.

ANEXOS: FOTOS DE LOS MATERIALES.

Foto 1: Centrifuga y microscopio binocular.



Foto 2: Microscopios binoculares.



Foto 3: Espectrofotómetro de micro-volumenes para DNA, RNA y proteínas:



Foto 4: Estufa de flujo forzado:



Foto 5: Agitador de tubos vortex – mixer:

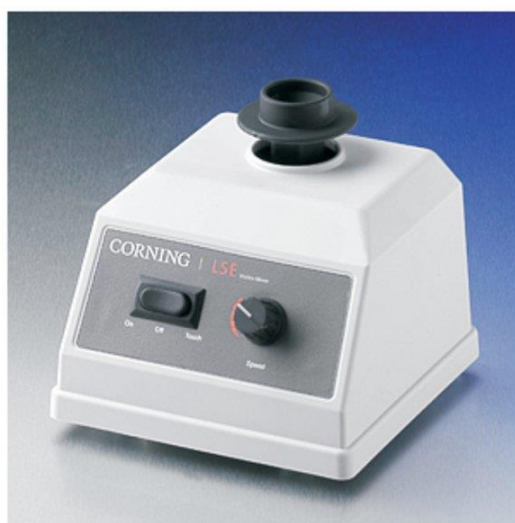


Foto 6: Tiempo real cualitativo exicycler tm 96 más ups:



Foto 7: Agitador de placas:



Foto 8: Transiluminador:



Foto 9: Centrifuga con refrigeración con rotor de tubos:



Foto 10: Incubadora de 55 litros:



Foto 11: Cabina de PCR con luz uv más ups:



Atentamente.

**Dr. Martin Campos V
DOCENTE AGROPECUARIA – UPEC**