

Comparación de tres métodos de extracción de ADN a partir de sangre periférica e hisopos bucales.

Martínez Garay, Luna¹; Gangemi Gizzi, Martina¹; Furfuro, Sandra Beatriz²

¹ Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Médicas.

² Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Médicas, Laboratorio de Análisis de ADN.

Correo electrónico de contacto: sfurfuro@gmail.com

Recibido: 8 de setiembre de 2025 – Aceptado: 8 de octubre de 2025

Palabras claves: Extracción de ADN, Hisopo bucal, Sangre, Extracción orgánica, Protocolo.

Keywords: DNA isolation, Buccal swab, Blood, Organic extraction, Protocol.

Introducción: La extracción de ADN es esencial en estudios de biología molecular, ya que de ella depende la calidad de los análisis posteriores. Existen numerosos protocolos diseñados para obtener ADN puro, íntegro y en concentraciones adecuadas desde diversas fuentes biológicas. La sangre periférica es una fuente común y eficiente, mientras que los hisopos bucales representan una alternativa no invasiva.

La elección del protocolo adecuado depende del tipo de muestra, aplicación, número de muestras, recursos del laboratorio y costos. Los métodos manuales incluyen pasos de lisis, degradación proteica y purificación mediante precipitación y lavado. Los métodos comerciales, por otro lado, emplean columnas con matriz de sílica para purificar los ácidos nucleicos.

Objetivo: Evaluar tres métodos de extracción de ADN a partir de sangre periférica e hisopos bucales, comparando rendimiento, calidad y costo-efectividad.

Objetivos específicos

- Analizar la eficacia de métodos comerciales y caseros en la extracción de ADN.
- Aplicar técnicas de cuantificación e integridad del ADN extraído.
- Conocer y aplicar las buenas prácticas de laboratorio en biología molecular.

Materiales y métodos: Se emplearon los reactivos comerciales DNA Isolation Systems (Nexttec) y Quick-DNA Miniprep (Zymo Research) según indicaciones del fabricante. Además, se utilizaron reactivos preparados en el laboratorio para realizar las técnicas de Salting out para las muestras de sangre y extracción orgánica para hisopos.

Se procesaron seis muestras de sangre periférica con EDTA y seis hisopos bucales aplicando a cada uno los distintos métodos de extracción.

La cuantificación del ADN se realizó por fluorometría (Quantus, Promega) y la integridad se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% con Bromuro de Etidio y visualización UV.

Resultados

Hisopos bucales

El rendimiento de ADN de los hisopos bucales extraídos con los reactivos Zymo, Nexttec y extracción orgánica variaron significativamente en las seis muestras (J1, S1, S2, M1, M2, L1).

Extracción Zymo: Rendimientos variables. La muestra S2 alcanzó 29 ng/μL, seguida por J1 (20 ng/μL) y S1 (9,4 ng/μL). M1 y L1 presentaron valores bajos (<1 ng/μL).

Extracción Nexttec: Resultados consistentemente bajos. Máximo en S2 (0,33 ng/μL), mínimo en S1 (0,07 ng/μL).

Extracción orgánica: Obtuvo los mayores rendimientos. S1 alcanzó 72 ng/μL, S2 con 37 ng/μL, y L1 con 26 ng/μL. Incluso la muestra más baja (M2, 13 ng/μL) superó ampliamente a los otros métodos.

Análisis estadístico (ANOVA) demostró diferencias significativas entre Zymo y extracción orgánica, destacando la superioridad de esta última.

Muestras de sangre

La extracción de ADN a partir de muestras de sangre utilizando los reactivos Zymo, y Salting out reveló variaciones significativas en el rendimiento de las seis muestras (J1, S1, M1, L1, S2, J2).

Extracción Zymo: Rendimiento alto y consistente. J1 (104 ng/μL) y S1 (72 ng/μL) fueron las más destacadas. El resto (M1, L1, S2, J2) obtuvo entre 39 y 50 ng/μL.

Extracción Nexttec: Solo se probó en J1, con un rendimiento muy bajo (2,19 ng/μL) y presencia de contaminantes visibles, motivo por el cual se descartó su uso.

Salting out: Resultados variables. Máximo en S1 (179 ng/μL) y S2 (113 ng/μL), pero muy bajos en M1 (2,34 ng/μL) y L1 (1,41 ng/μL).

El análisis estadístico de ANOVA entre Zymo y Salting out no mostró diferencias estadísticamente significativas en ADN total, aunque Salting out fue más variable.

La Integridad del ADN fue evaluada por gel de agarosa. Las muestras de sangre mostraron buena integridad. Algunas muestras de hisopos (extraídas con Zymo y extracción orgánica) presentaron bandas difusas, indicando fragmentación.

Discusión: En este estudio se comparó la eficacia de la extracción de ADN mediante tres métodos (Zymo, Nexttec y extracción orgánica o salting out) para hisopos bucales y muestras de sangre. Los principales resultados son los siguientes:

La extracción orgánica para hisopos bucales superó a los reactivos comerciales: Produjo sistemáticamente las mayores cantidades de ADN, por lo que es el método de elección para hisopos. Zymo mostró un éxito moderado, mientras que Nexttec fue ineficaz para las muestras bucales.

El reactivo Zymo fue el más fiable para muestras de sangre: Produjo rendimientos de ADN altos y consistentes en todas las muestras. Nexttec (probado en J1) tuvo un rendimiento pobre, similar a los resultados con hisopos bucales.

El método Salting Out tuvo una alta variabilidad en sangre: Aunque alcanzó el mayor rendimiento individual (179 ng/ μ L en S1), fue inconsistente, con una recuperación de ADN muy baja en otras muestras. Esto sugiere que la extracción con *Salting out* podría depender de la muestra y ser menos fiable que Zymo para sangre.

Nexttec tuvo un rendimiento inferior en ambos tipos de muestras: Demostró rendimientos bajos de ADN en hisopos bucales y en la única muestra de sangre analizada, lo que se descarta su utilidad para estas aplicaciones.

Conclusión

- Para los hisopos bucales, la extracción orgánica es óptima cuando se necesitan altos rendimientos de ADN, a pesar de la complejidad del procedimiento. En casos donde sea necesaria una extracción rápida, Zymo sería la técnica de elección ya que su ejecución demanda menos de dos horas de trabajo.
- Para las muestras de sangre, Zymo es la opción más fiable, ya que equilibra un alto rendimiento y consistencia.
- El método de Salting out puede ser útil en casos específicos, pero requiere optimización para reducir la variabilidad.
- No se recomienda el reactivo Nexttec para la extracción de ADN bucal o de muestras de sangre.

Los resultados permitieron seleccionar las técnicas de extracción a utilizar en el laboratorio de Análisis de ADN para las muestras de hisopos bucales y sangre para su aplicación en estudios de genética forense y diagnóstico molecular.

Bibliografía

1. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, New York, EE.UU: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
2. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Lewis JA, Raff J. Introducción a la Biología celular. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2004.
3. Butler JM. Fundamentals of forensic DNA typing. San Diego, CA, Estados Unidos de América: Academic Press; 2010.
4. Chacon-Cortes D, Griffiths L. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. Journal of Biorepository Science for Applied Medicine. 2014; 2:1–19.
5. Tagliaferro SS, Zejnelagic A, Farrugia R, Wettinger SB. Comparison of DNA extraction methods for samples from old blood collections. Biotechniques [Internet]. 2021;70(5):243–50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2144/btn-2020-0113>
6. Miskimen KLS, Miron PL. Isolation of genomic DNA from mammalian cells and fixed tissue. Curr Protoc [Internet]. 2023;3(7):e818. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cpz1.818>