

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE BACTERIANA POR SECUENCIACIÓN (PCR UNIVERSAL)

Actualizado en Octubre 2024 por TM Claudia Castillo V.

Revisado y Aprobado por Dra Patricia García

Código del Examen : 2019

Nombres del Examen : Identificación de especie bacteriana por secuenciación (PCR Universal)

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Laboratorio CMSJ Microbiología	Lunes a Viernes	10 días hábiles

Preparación del Paciente : No requiere preparación

Muestra Requerida : **Se debe especificar claramente el tipo de muestra:**

- Tejidos frescos estériles en frasco estéril con o sin suero fisiológico estéril.
- Líquidos de cavidades estériles en frasco estéril, sin aditivos. Volumen mínimo para procesar LCR y otros líquidos estériles es de **500 µL**.
- Cepas bacterianas en placa.
- Frasco de hemocultivo positivo sin carbón

Este examen no se realiza en:

- Botellas de hemocultivo positivo con carbón
- Muestra de sangre directa
- Frascos de hemocultivo negativo con o sin carbón.
- Tejidos fijados

Otras muestras u otras condiciones de almacenamiento consultar al 223548576

Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (4 °C)	Congelada (-20°C)
Cepas bacterianas	5 días	10 días	No aplica
Tejidos o líquidos	4 horas	72 horas	1 mes

Condiciones de Envío al Laboratorio : *Dentro de Santiago y en el día
Cepas: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí/ Congelada NO
Tejidos o líquidos: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí / Congelada Sí

*Desde fuera de Santiago
Cepas: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí / Congelada NO
Tejidos o líquidos: Ambiente Sí/ Refrigerada Sí / Congelada Sí
Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.

Método Utilizado : Análisis del gen que codifica para el 16S rRNA en bacterias

- Extracción del ADN bacteriano
- Amplificación por PCR de la región correspondiente
- Purificación del producto de PCR
- Reacción de secuencia
- Electroforesis capilar en equipo ABI Prism

- Análisis de la secuencia y búsqueda en base de datos Genbank utilizando BLAST.

Intervalos de Referencia : No aplica.

Valor Crítico : No aplica.

Parámetros de Desempeño ^{2,4,5,6} : Debido a que algunas especies bacterianas presentan alta homología a nivel de su gen 16S rRNA, no siempre es posible resolver a nivel de especie, y en ese caso el resultado es más general.

El desempeño de la técnica dependerá de la cantidad de microorganismos presentes en el tejido o líquido a estudiar y de la eventual presencia de inhibidores de la PCR. Pueden existir situaciones de cultivo positivo con PCR universal negativo. Los mejores rendimientos se han obtenido en tejido o válvulas en endocarditis infecciosa, abscesos cerebrales y osteomielitis.

Información Clínica ^{4,5} : En microbiología clínica, la identificación molecular basada en el ADNr 16S, se utiliza fundamentalmente para microorganismos, cuya identificación mediante el uso de técnicas microbiológicas tradicionales resulta imposible, difícil o requiere mucho tiempo. Este examen es un complemento al cultivo y PCR específicos, ya que su sensibilidad analítica es similar, especialmente cuando se considera que es un PCR convencional.

Resultados posibles:

- No se amplificó DNA bacteriano
- Género y especie del microorganismo identificado
- No concluyente, por presencia de inhibidores o por presencia en la muestra de más de un tipo de DNA bacteriano.
- Bajo porcentaje de identidad

**Factores Interferentes:
Inhibidores de la PCR**

Referencias

1. Baker et al, Review, and reanalysis of domain specific 16S primers. J. Microbiol. Methods, 2003; 55 (3): 541-555.
2. CLSI, Clinical and Laboratory standards Institute. Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing; Approved Guideline. MM18-A Vol 28 Num. 12, Abril 2008
3. Roche. Inserto de la técnica de extracción general y sangre, método Qiagen, QUIAamp DNA Mini kit, Febrero 2003
4. Sontakke et al. Use of broad range 16S rDNA PCR in clinical microbiology. J. Micr. Methods 76 (2009), 214-225
5. Rodicio y Mendoza. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: Fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 2004 Apr; 22(4): 238-245.
6. Petti C. Detection and identification of microorganism by gene amplification and sequencing. CID2007; 44:1108-1114.