

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE DE HONGOS POR SECUENCIACIÓN (PCR UNIVERSAL)

Actualizado en Octubre 2024 por TM Claudia Castillo V.
Revisado y Aprobado por Dra Patricia García

Código del Examen : 2338

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

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

Preparación del Paciente : No requiere.

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

- Tejidos frescos y 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**.
- Lavado broncoalveolar
- Cepas de levaduras u hongos filamentosos en placa o en tubo con agar Saboureaud.
- 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

Estabilidad de la Muestra :	Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (4 °C)	Congelada (-20°C)
	Cepas	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 las regiones ITS (internally transcribed spacers) en hongos
– Extracción del ADN fúngico

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

- 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} : Debido a que algunas especies presentan alta homología a nivel de sus genes ITS, 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.

Información Clínica ^{4,5} : En microbiología clínica, la identificación molecular basada en la secuenciación de las ITS en el caso de hongos, se utiliza fundamentalmente en aquellos casos en los cuales la 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 la sensibilidad analítica es similar, especialmente cuando se considera que es un PCR convencional.

Resultados posibles:

- No se amplificó DNA fúngico
- Género y especie del hongo identificado
- No concluyente, por presencia de inhibidores o por presencia en la muestra de más de un tipo de DNA fúngico.
- 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. T.J White et al, Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A guide to methods and Applications. Capítulo 38.1990.