

Evaluación del sistema genesig q16 en el diagnóstico de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)

Inmaculada García-Heredía, Javier Coy, María Aznar, Francisco Morales, Adelina Gimeno, Antonia Sánchez-Bautista, Inmaculada Vidal, Alfredo Zorraquino, Mariano Andreu, Antonio Galiana, Juan Carlos Rodríguez
Hospital General Universitario de Alicante, Servicio de Microbiología.

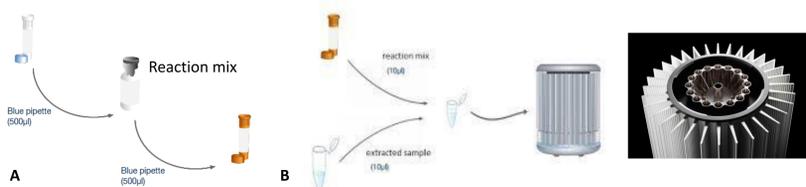
INTRODUCCIÓN

El genesig®q16 es un sistema comercializado muy recientemente por Akralab S.L, (www.akralab.es) que, basado en la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa, es capaz de detectar la presencia del genoma de muchos microorganismos en diferentes muestras clínicas. Dispone de una gran variedad de reactivos para determinar la presencia de diferentes patógenos.

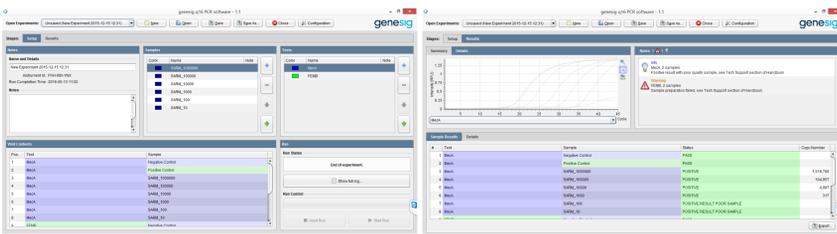
Nuestro trabajo evalúa por primera vez en nuestro país, la utilidad diagnóstica del sistema en la detección de la presencia de *Staphylococcus aureus* y de su resistencia a meticilina (MRSA easy kit). Para ello, el sistema utiliza dos pares de oligonucleótidos y sondas. Uno de ellos hibrida con el gen femB, que es específico del cromosoma de *Staphylococcus aureus* y el otro hibrida con el gen mecA, asociado a la resistencia a meticilina.



MATERIALES Y MÉTODOS



A. Preparación del mix de reacción junto con la sonda para cada gen. B. Para cada muestra en análisis, se combina el mix de reacción con la sonda correspondiente junto con el DNA objeto de análisis.



A. Interfaz del programa donde se nombran las muestras y donde aparece el orden en el que se deben situar las muestras en el aparato. B. Resultados del análisis y gráfico control de los resultados de la amplificación.

- Límite de detección de la técnica:** Utilizando diluciones seriadas del DNA extraído de dos cepas de control de calidad de *Staphylococcus aureus*, una resistente y otra sensible a meticilina. Este proceso se ha hecho por triplicado.
- Sensibilidad y especificidad de la técnica:** Hemos calculado este parámetro utilizando aislados clínicos y hemocultivos positivos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, resistentes y sensibles a meticilina.
- Procesamiento de las muestras:** El DNA de los aislados clínicos fue extraído por Chelex®, tras diluir la colonia en 500 ul de agua estéril. El procesamiento del hemocultivo positivo se realizó diluyendo el medio 1:1000 con el mismo diluyente. De cada muestra se utilizan 10µl que se mezclan con 10µl de la master mix que contiene los oligonucleótidos y las sondas para cada gen. Se utilizó como control positivo el suministrado por el fabricante y como control negativo se utilizó agua destilada estéril. En todo momento se siguieron las instrucciones del fabricante.

RESULTADOS

- Límite de detección:** El sistema es capaz de detectar la presencia de 100 bacterias por muestra.
- Sensibilidad y especificidad:** Tanto a partir de colonia como a partir de hemocultivo positivo, es del 100% para las 2 sondas. La sonda del cromosoma FEMB en todos los casos ha discriminado entre *Staphylococcus aureus* y otras especies del género *Staphylococcus* sp. También la sonda mecA, en todos los casos, ha detectado la presencia de resistencia a meticilina.

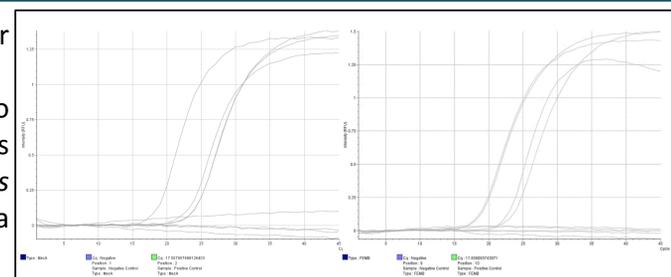


Fig2. Ejemplo de curvas de amplificación de hemocultivos. A la izquierda para la sonda mecA y a la derecha para la sonda femB.

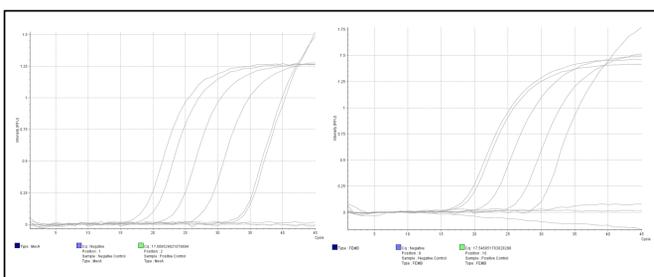


Fig1. Curva de amplificación de las diluciones seriadas para determinar el límite de detección de la técnica para SARM. A la izquierda para la sonda mecA y a la derecha para la sonda femB.

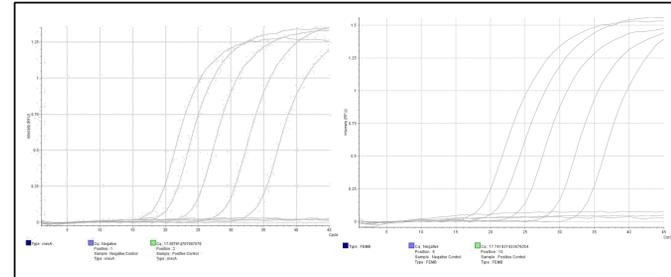


Fig3. Ejemplo de curvas de amplificación de colonias SARM. A la izquierda para la sonda mecA y a la derecha para la sonda femB.

CONCLUSIONES

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* pueden ser muy graves y la supervivencia del paciente se relaciona directamente con la rapidez en la instauración de un tratamiento correcto, por lo que la detección rápida de la presencia de resistencia a meticilina es vital. La primera evaluación de este sistema en nuestro país, aunque de forma preliminar, muestra que es una herramienta muy útil para detectar precozmente la presencia del microorganismo en el hemocultivo positivo por presencia de cocos gram positivos en la tinción de Gram, aportando además, información sobre su sensibilidad; además, del beneficio clínico del paciente, puede ayudar al control de brotes nosocomiales en unidades hospitalarias de alto riesgo.

DISTRIBUÍDO EN EXCLUSIVA PARA ESPAÑA



Akralab, S.L.
Pol. Industrial las Atalayas
Avda. de la Antigua Peseta - 77
Buzón 20212 - C.P: 03114 - Alicante

Tlf: 902 22 22 75
Fax: 902 15 41 65
atencion.clientes@akralab.es
www.akralab.es