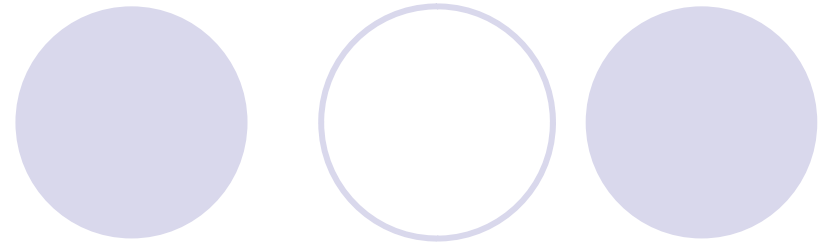
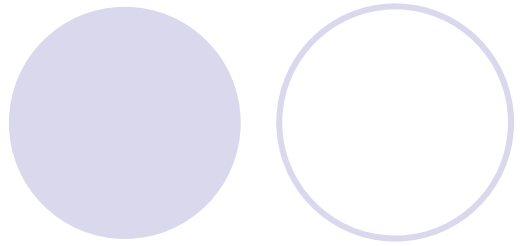




Utilidad de las técnicas de biología molecular en el diagnóstico microbiológico

**Dr. Miguel Fajardo Olivares
Servicio de Microbiología**



- Métodos fenotípicos
- Métodos moleculares
- Métodos basados en proteómica

Métodos moleculares

● Ventajas

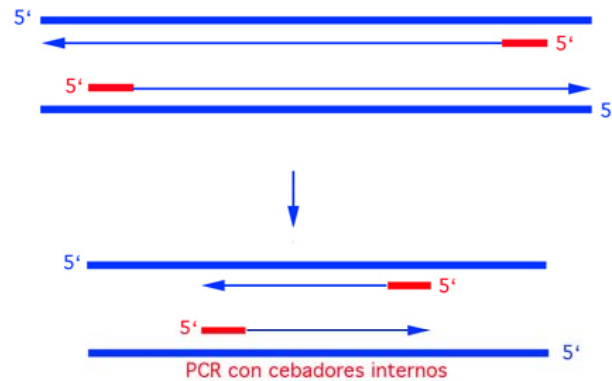
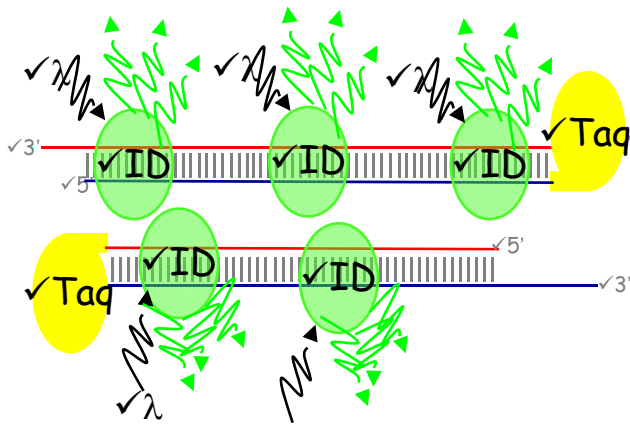
- Rapidez
- Especificidad
- Imposibilidad del método fenotípico
- Tratamiento ATB previo

● Inconvenientes

- Experiencia
- Coste económico
- “Dirigidas”
- Infección??
- Pruebas de sensibilidad

Tipos de métodos moleculares

- Técnicas que NO amplifican Ác. Nucleicos
 - Hibridación de ADN o ARN
 - Técnicas que amplifican Ác. Nucleicos (PCR)
 - PCR convencional
 - PCR a tiempo real (q-PCR)
- } Multiplex
Nested PCR
RT-PCR



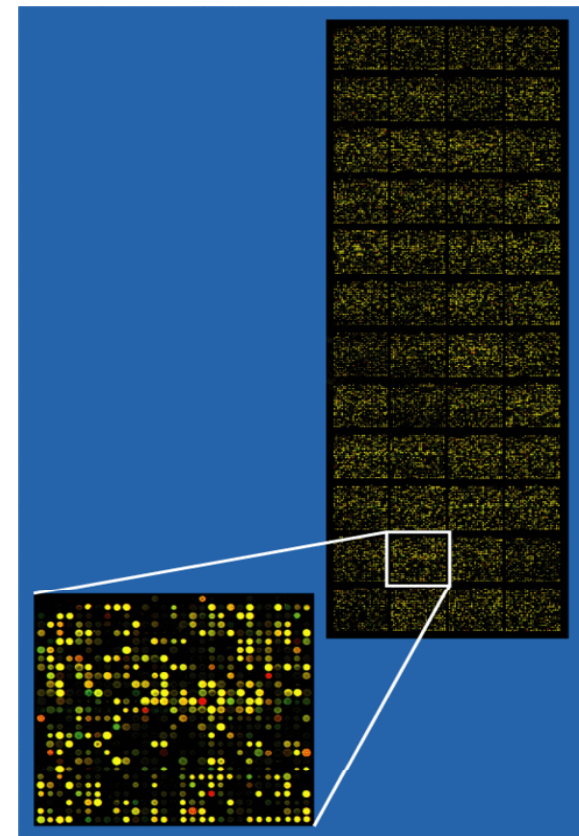


Técnicas de hibridación

- Única
- Múltiple
 - Diferentes microorganismos
 - Diferentes cualidades mismo microorganismo
- Ventajas: mide cantidad de ADN muestra
- Requisito: cantidad mínima suficiente

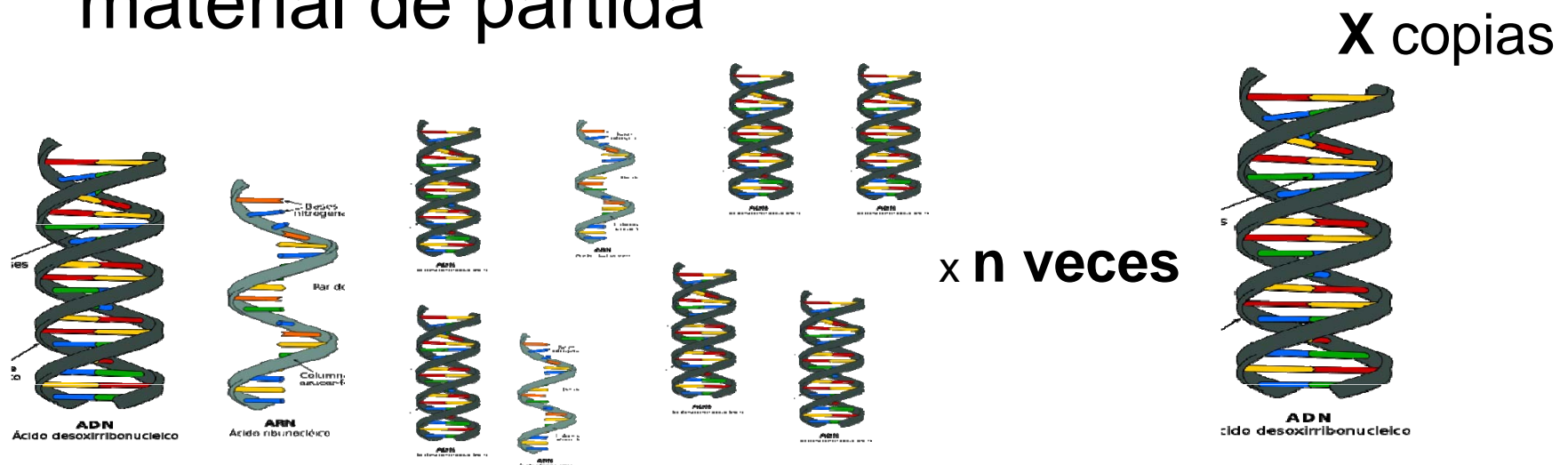
Técnicas de hibridación

- Lectura mediante amplificación de la señal
 - Visual
 - Informática



Reacción cadena de la polimerasa

- Procedimiento que permite realizar copias de un fragmento de ADN de forma rápida
- Ha desaparecido la limitación de disponer de cantidad suficiente de ADN como material de partida



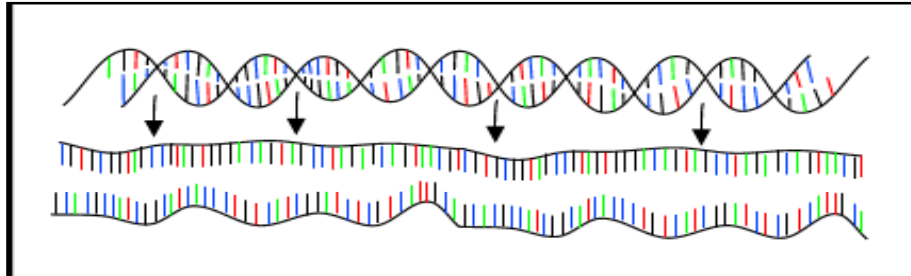
Componentes de la PCR

- Molde de ADN
- Dos sondas, iniciadores o primers
- dNTPs
- Taq polimerasa
- Tampón de reacción
- Mg^{2+} , sales
- Material adecuado

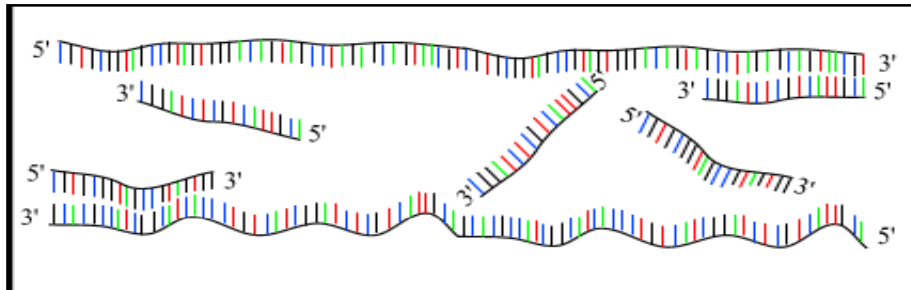


Etapas de la PCR

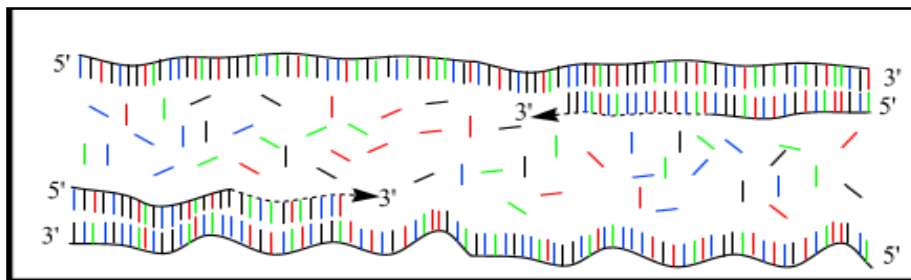
Un ciclo



Desnaturalización del ADN



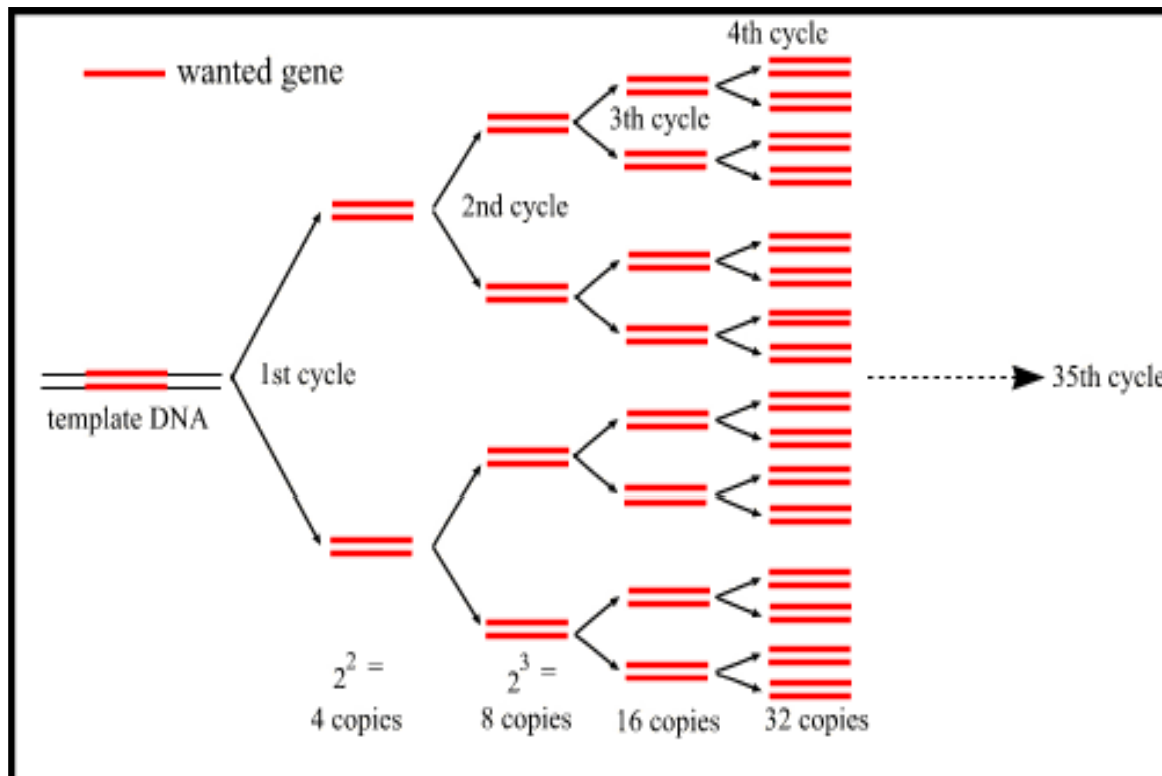
Hibridación de los iniciadores específicos al ADN de cadena sencilla



Extensión enzimática del ADN

Nº de copias tras la PCR

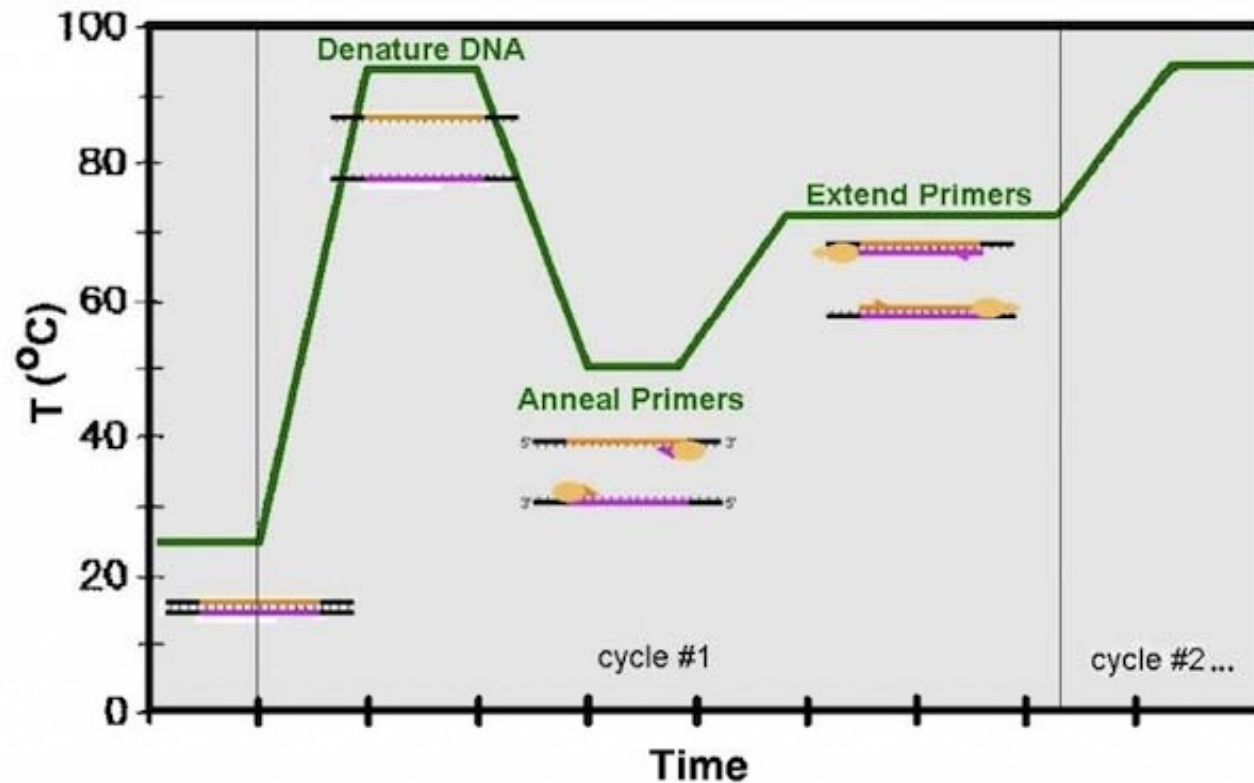
- Amplificación exponencial $n \text{ ciclos} = 2^n \text{ moléculas}$



Nº ciclos	Nº amplicones
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
20	1.048.576
30	1.073.741.824

¿Dónde se realizan las PCR?

- Termociclador



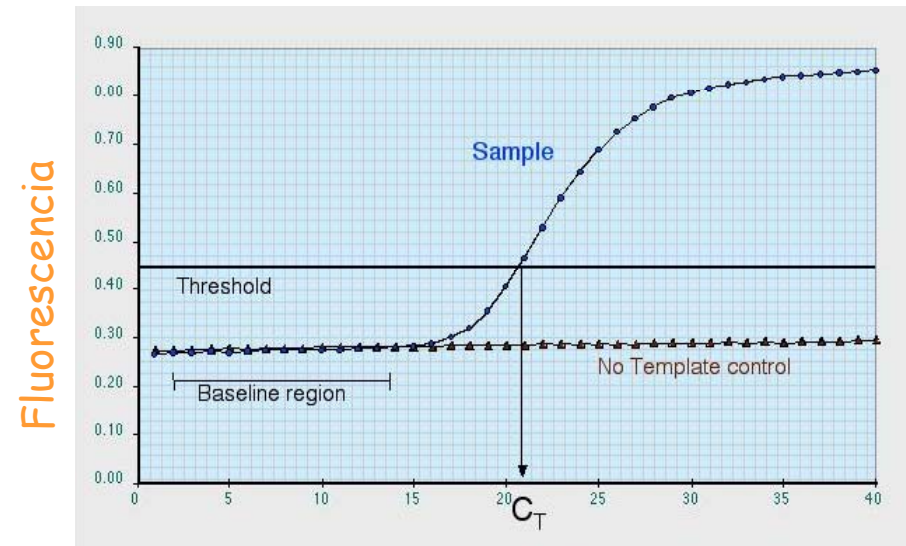
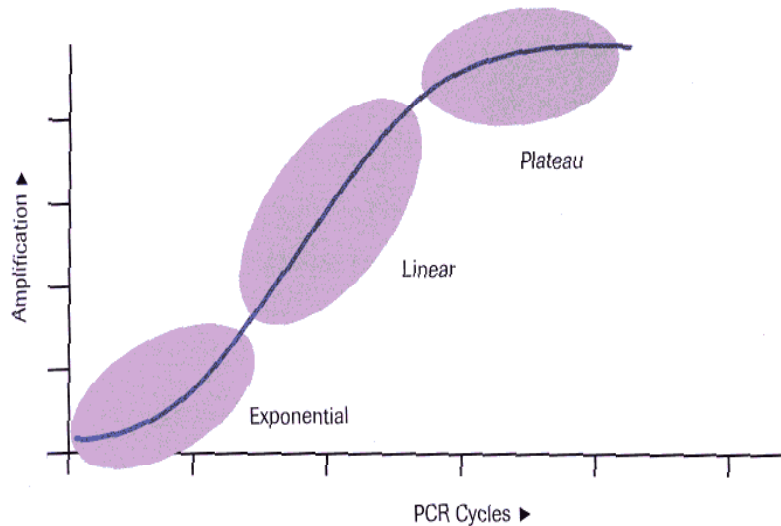
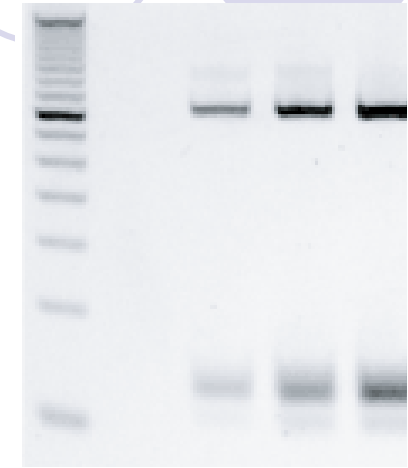


Tiempo de duración de la PCR

- Tipo de muestra
- Tipo de microorganismo
 - Cantidad de C+G
 - ARN o ADN
- Técnica empleada
 - Capacidad del termociclador
 - Calidad de los reactivos
 - Casa comercial
 - N° de ciclo en el que amplifique
- Clase de PCR

Clases de PCR

- PCR convencional / tiempo real
 - PCR múltiple “multiplex PCR”
 - PCR anidada “nested PCR”
 - PCR retrotranscripción “RT-PCR”



nº ciclo PCR

Tiempo **TOTAL** de la PCR



2 horas



1-3 horas

Nuestras hibridaciones



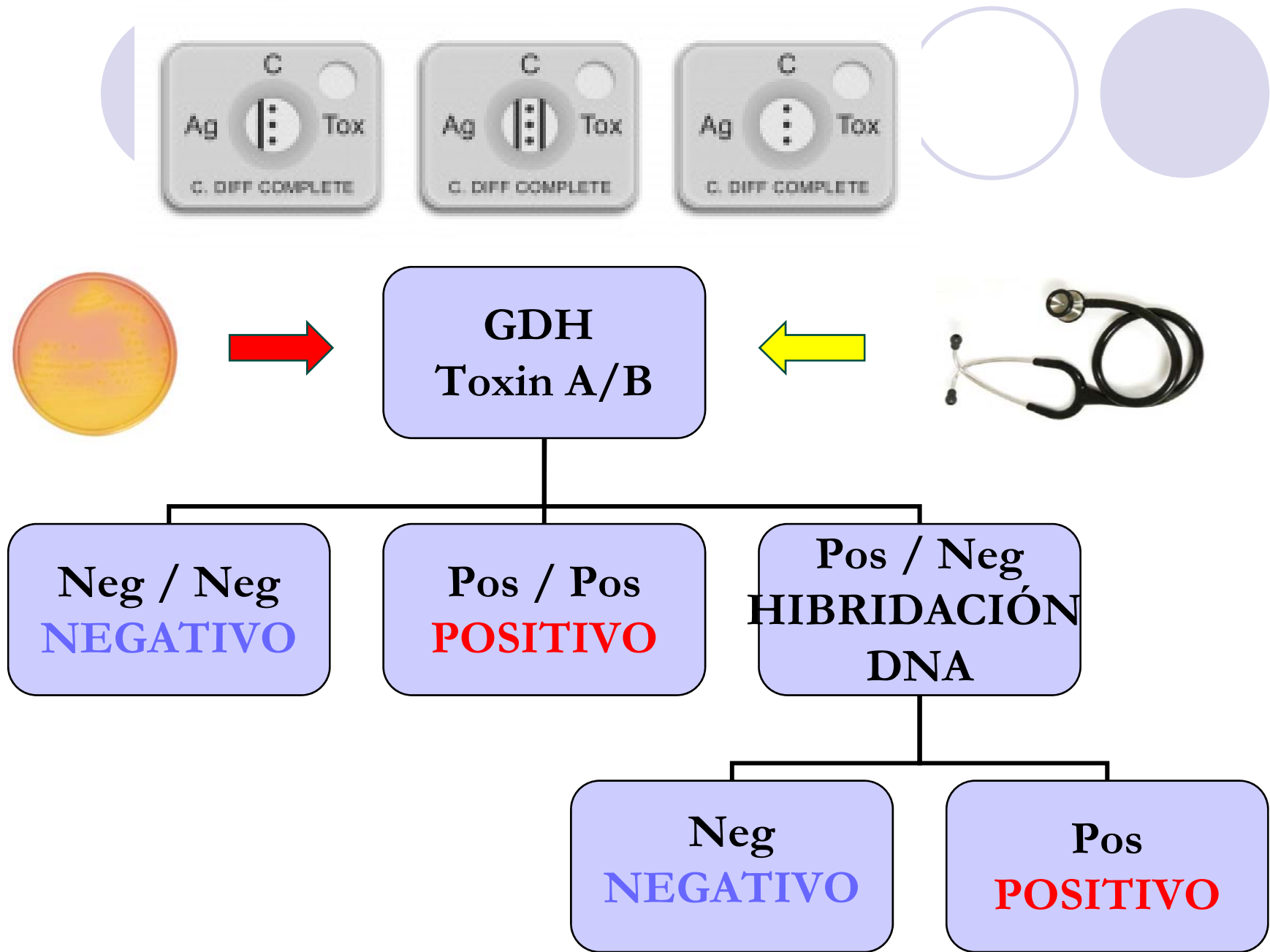
- Toxina de *Clostridium difficile*
- Detección de *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus* coagulasa negativos y gen *mecA* directo de hemocultivos
- Detección de *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida* spp

Toxina B de *Clostridium difficile*

- Detecta > 50 copias / reacción *gen tcdB*
- VPP = 98% VPN = 100%
- Sustancias que interfieren con la prueba
 - Pastas de Zn, óxido de Zn
 - Detergentes
- Sustancias que No interfieren
 - Parafina
 - Geles y lubricantes rectales
 - Duphalac
 - Espermicidas

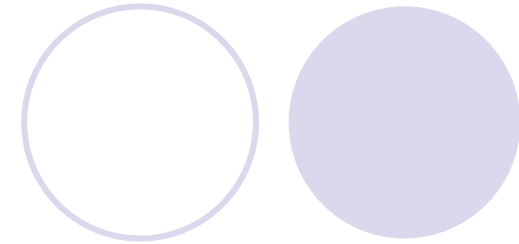
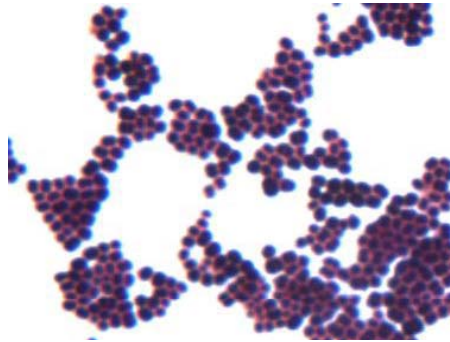


Tox A+/Tox B- (Voth DE, *et al.* Clin Microbiol Rev 2005; 18:247-263)



MRSA/SA BLOOD CULTURE

- Test cualitativo: SA, SCoN, gen *mecA*
- Detectar > 20 copias / reacción
- VPP = 96% VPN 99%
- Muestra:
 - Hemocultivo
 - Líquidos orgánicos en hemocultivo
 - Otros líquidos orgánicos: sinovial



48 horas

•Antecedentes bacteriemia *S. aureus*
•Servicios de riesgo

3 horas

Siembra en
placas de agar

MRSA/SA
BLOOD CULTURE

Identificación
Antibiograma

Género+especie
R o S a meticilin

Nuestras PCR



- VIH, VHB, VHC



- CMV, VEB, BK, JC, VHs,
Bordetella spp



Nuestras PCR



- *Pseudomonas, Acinetobacter, Staphylococcus* y gen *mecA*



- Influenza A y B, *Mycobacterium* complex, SARM nasal, Enterovirus



PCR para *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* con *mecA*

- PCR a tiempo real
- Sondas marcadas con fluoróforos
- Sensibilidad:
 - *P. aeruginosas* > 100 copias/ μ L, gen *hcpC*
 - *A. baumannii* > 10 copias/ μ L, gen *dnaA*
 - *S. aureus* > 10 copias/ μ L, gen NUC
 - Gen *mecA* > 1000 copias/ μ L
- Muestra: aspirado traqueobronquial
- Transporte inmediato o congelar a -20°C
- Reactivos almacenados a -20°C
- Purificar el DNA de la muestra

PCR para *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* con *mecA*: resultados

- Antes del ciclo 30 no amplifica
- Tiempo mínimo estimado = 3.5 horas

Canales				Interpretación
FAM Std/Res	TxR Std/Res	Alx532 Std/Res	Alx532 Ct	
<i>mecA</i>	<i>S. aureus</i>	Control interno		
POS	POS	Indiferente	Indiferente	POSITIVO <i>mecA</i> POSITIVO <i>S. aureus</i>
POS	NEG	Indiferente	Indiferente	POSITIVO <i>mecA</i> no <i>S.aureus</i>
NEG	POS	Indiferente	Indiferente	POSITIVO <i>S. aureus</i>
NEG	NEG	POS	Ct dentro del rango	NO SE DETECTA
NEG	NEG	POS	Ct fuera del rango	NO VALORABLE
NEG	NEG	NEG	0,00	NO VALORABLE

PCR para *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* con *mecA*

- Indicada:

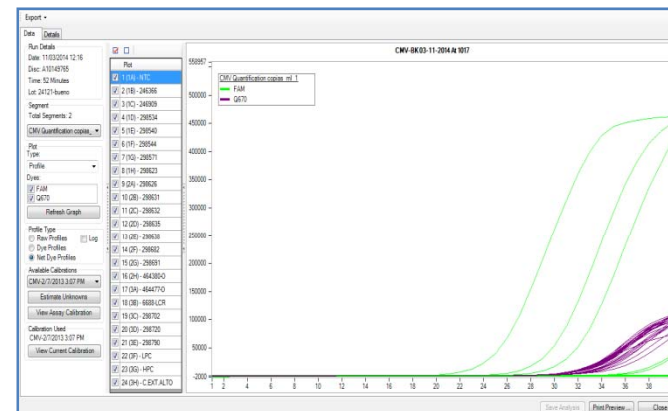
- Paciente nuevo sin pruebas previas
- Paciente no colonizado

- No está indicada:

- Resultados previos positivos
- Colonización/infección conocida
- Demasiado tarde para empezar la técnica
- Cultivos convencionales son positivos

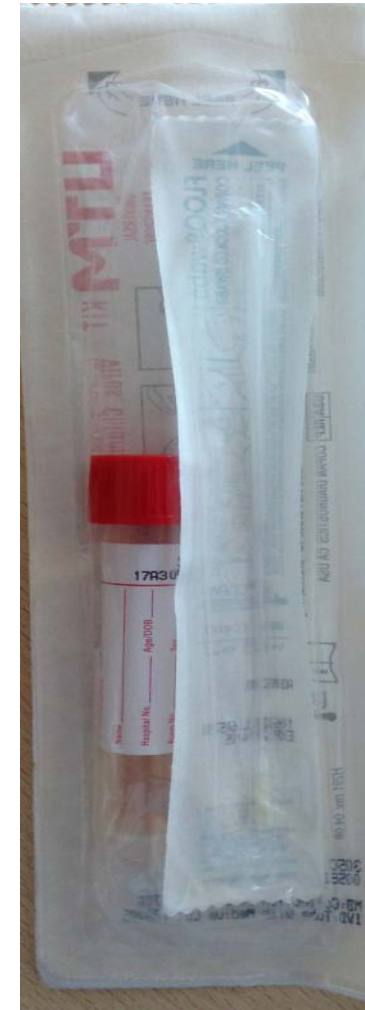
PCR tiempo real para CMV (BK y EB)

- 70% población es seropositiva
- Región altamente conservada gen UL83
- Muestra
 - Sangre total SIN heparina o plasma
- Cuantitativa: $713-4 \times 10^8$ copias / mL
 - =método de extracción, transporte y manipulac
 - =técnica
 - =muestra

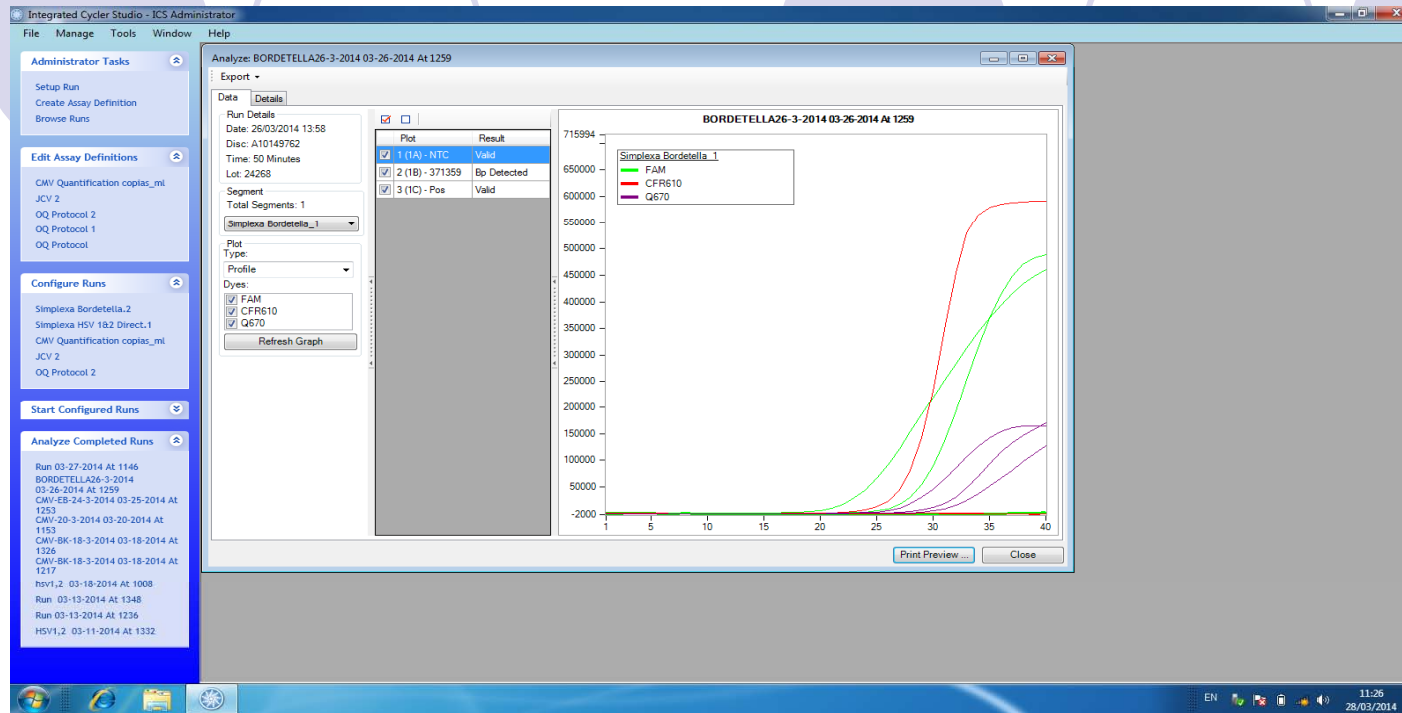


PCR tiempo real *Bordetella* spp

- Diagnóstico cualitativo
 - *Bordetella pertussis*
 - *Bordetella parapertussis*
- Muestra: frotis nasofaringeo
- Transporte
 - Torundas con medio de Amies
 - Medio líquido para virus
- Conservación muestra
 - Hasta 48 h a 4°C



PCR *Bordetella* (Focus)

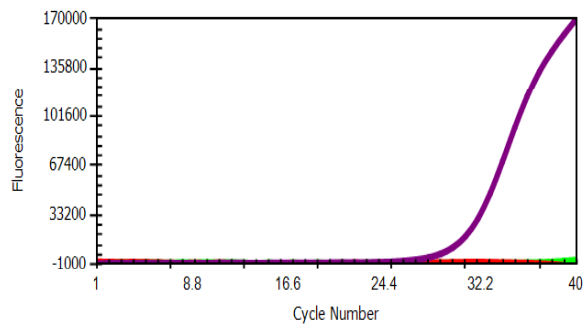


■ -Bp

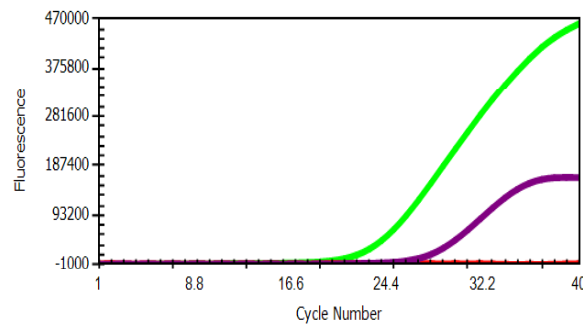
■ -Bpp

■ -SEAC

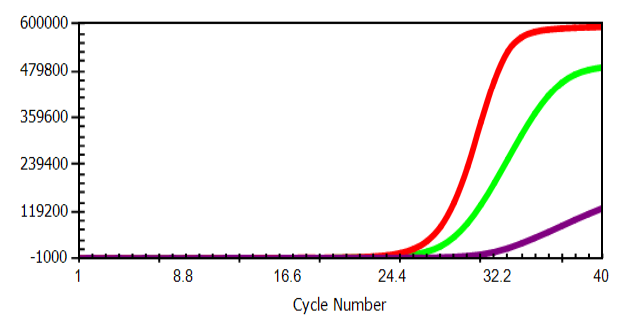
NTC (1A)



371359 (1B)



Pos (1C)





PCR tiempo real MTB/RIF

- Detecta ADN complejo *M. tuberculosis*
- Mutaciones del gen *rpoB*: rifampicina R
- Muestra
 - Tracto respiratorio inferior
- Muestras No validadas casa comercial
 - Respiratorias en pacientes diagto/trat
 - Otras muestras
- Tiempo del ensayo = 2.5 horas

RT-PCR Enterovirus



- Detección cualitativa de ARN en LCR
- Detecta
 - Poliovirus
 - Coxsackievirus
 - Echovirus
 - Enterovirus
- NO detecta: Herpes, Arbovirus, Paperas...
- Muestra
 - Refrigerar hasta 72 horas
 - Congelar a -20°C
 - No se puede centrifugar

PCR virus de la gripe

- RT-PCR a tiempo real
- Detección cualitativa
 - Gripe A
 - Gripe B
 - Gripe 2009 H1N1
- Muestra
 - Lavados/aspirados nasofaringeos
 - Exudados nasofaringeos



Nuevas PCR

Diferenciación Rápida de Especies y Determinación de Resistencia Antimicrobiana desde Hemocultivo - Línea de Productos GenoType® Blood Culture

Los nuevos kits **GenoType® BC grampositive** y **GenoType® BC gramnegative**, de Hain Lifescience, representan dos valiosas herramientas para la conclusión de sus diagnósticos microbiológicos. Comenzando por la tinción de Gram de un Hemocultivo positivo, podrá elegir entre **GenoType® BC grampositive** y **GenoType® BC gramnegative**.

GenoType® BC grampositive y **GenoType® BC gramnegative** le ofrecen las siguientes ventajas:

- **Detección de bacterias Gram positivas y determinación de genes de resistencia en un solo paso:** Además de la diferenciación de especies, el **GenoType® BC grampositive** ofrece la opción de detectar genéticamente determinadas resistencias a meticilina y a vancomicina.
- **Detección de bacterias Gram negativas:** El **GenoType® BC gramnegative** permite la detección de 15 especies Gram-negativas al mismo tiempo.
- **Resultados rápidos:** Ambos ensayos de la **línea GenoType® Blood Culture** pueden ser utilizados directamente desde hemocultivos positivos; no requieren subcultivos. Comenzando por un hemocultivo positivo, el resultado está listo después de unas pocas horas. Además, el aislamiento de ADN con el nuevo sistema **GENO+CARD®** nos ahorra aún más tiempo.
- **Seguro:** La diferenciación de especies y la determinación de resistencias son llevadas a cabo a nivel genético en ambos ensayos. En consecuencia, los resultados son claros, sin ambigüedades; ya que, no están basadas en caracteres fenotípicos o parámetros bioquímicos.

Aislamiento de ADN con GENO+CARD® adaptado especialmente para utilizar con la línea de productos GenoType® Blood Culture.

GENO+CARD® permite el más rápido aislamiento de ADN. Primero, se aplica una gota del hemocultivo positivo en la tarjeta **GENO+CARD®**. Posteriormente una pequeña porción de la matriz es cortada mediante un punzón y es utilizada directamente para la amplificación de ADN. Por tanto, **GENO+CARD®**, en comparación con otros métodos, permite el aislamiento de ADN de un modo rápido, fácil y cómodo.

HAIN
LIFESCIENCE

Info: www.hain-lifescience.es

GenoType® BC grampositive

GenoType® BC grampositive permite la detección de 17 especies de bacterias gram-positivas. Además el ensayo provee información de las potenciales resistencias a meticilina y vancomicina.

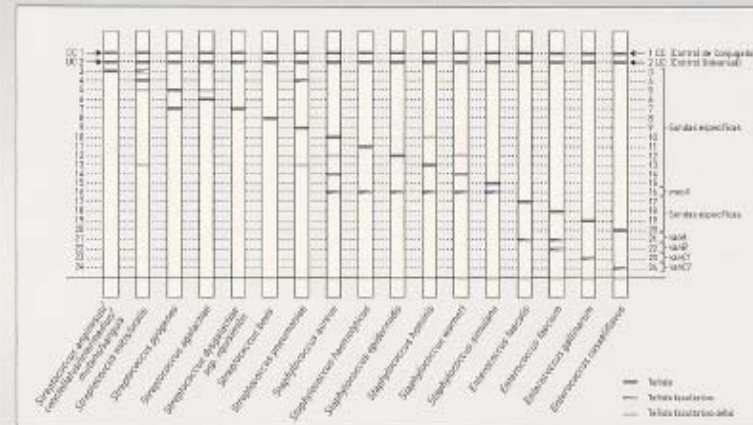


Fig. 1: Zonas de reacción del **GenoType® BC grampositive**

GenoType® BC gramnegative

GenoType® BC gramnegative permite la detección de 15 especies de bacterias gram-negativas, directamente desde hemocultivo positivo.

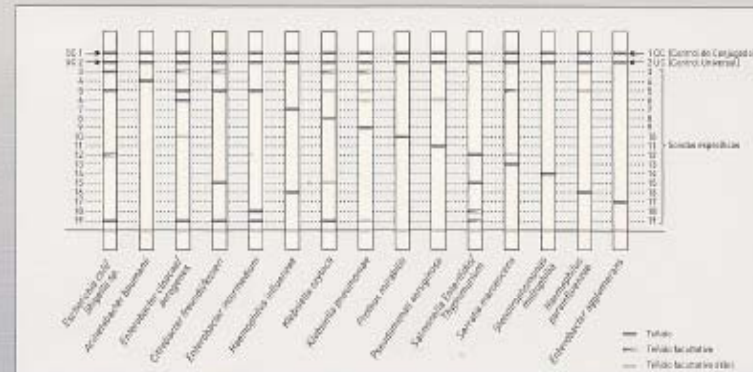


Fig. 2: Zonas de reacción del **GenoType® BC gramnegative**

Hain Lifescience Spain, S.L.

Príncipe, 8, 3º A-B | 36202 Vigo-Pontevedra

Tlf. gratuito: 00 800 42 46 54 33

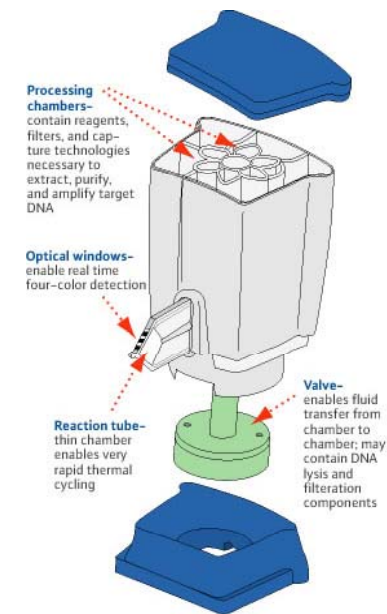
Tlf.: 886 12 42 51 | Fax: 886 12 42 52

E-Mail: info@hain-lifescience.es | www.hain-lifescience.es

HAIN
LIFESCIENCE

PCR-RT: GeneXpert

- Extracción de DNA o RNA + amplificación
- Tiempo de preparación < 2 minutos
- Tiempo de la prueba: 30-45 minutos
- **Neumonías atípicas**



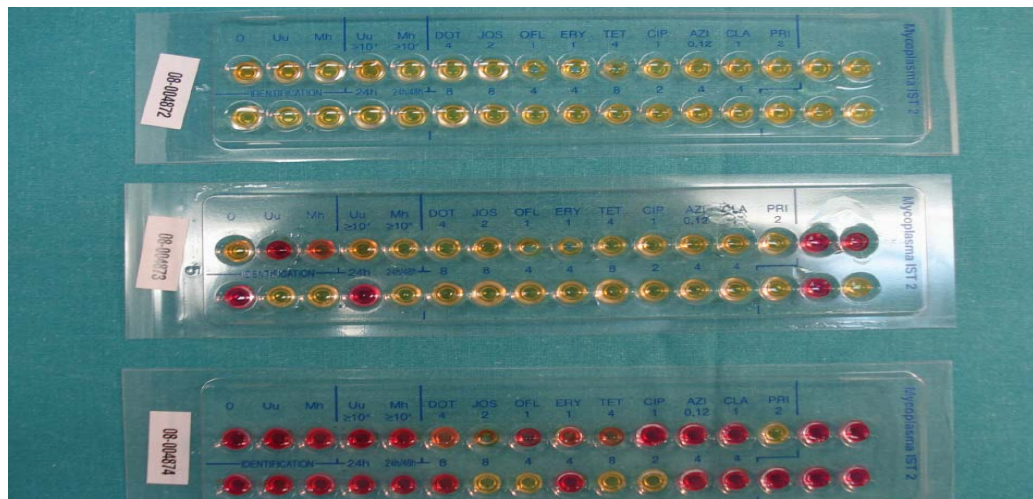
PCR-RT: GeneXpert

- Extracción de DNA o RNA + amplificación
- Tiempo de preparación < 2 minutos
- Tiempo de la prueba: 30 minutos
- **Virus respiratorio**
 - Adenovirus
 - Enterovirus
 - Parainfluenza
 - Influenza A y B
 - Metaneumovirus
 - Bocavirus**
 - VRS**
 - Rinovirus**
 - Coronavirus**



ETS

- Diferentes casas comerciales
 - *Neisseria gonorrhoeae*
 - *Chlamydia trachomatis*
 - *Mycoplasma genitalium*
 - *Mycoplasma hominis*
 - *Ureaplasma urealyticum*



Espectrometría de masas: Maldi-tof

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-time of flight

- **Fundamento de la técnica**
 - Identificar moléculas termolábiles (proteínas) a partir de un compuesto desconocido mediante ionización
- **Espectrómetro**
 - Fuente de ionización
 - Analizador de masas
 - Detector de iones
- **Resultado**
 - Gráfico de proteínas



Visión esquemática del proceso

Muestra + Matriz sobre la tarjeta

Aceleración

Columna

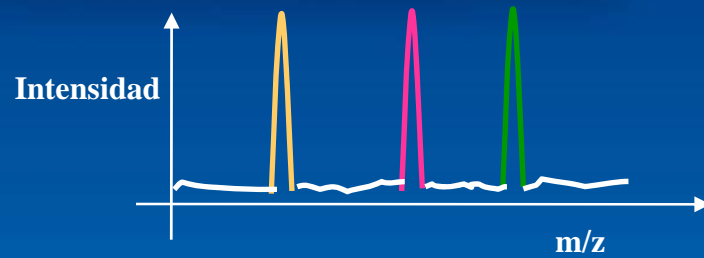
Fuente Láser



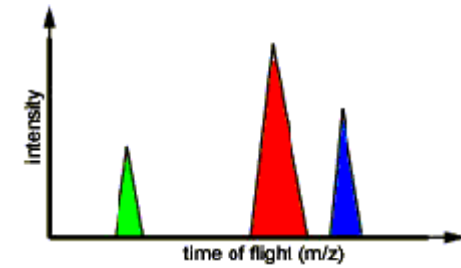
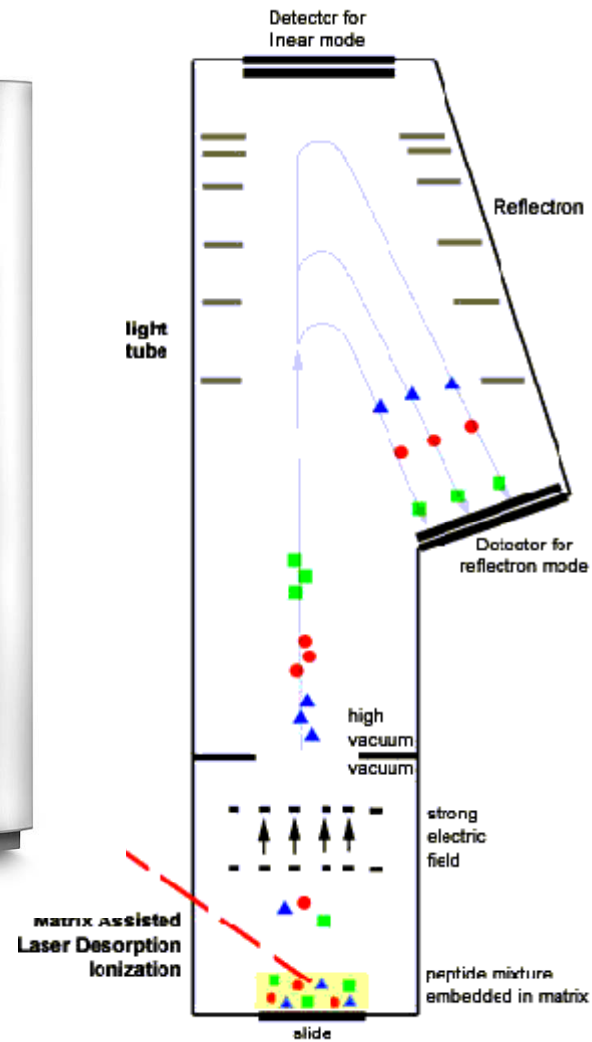
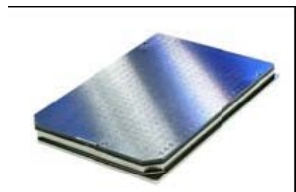
Electrodos

Detector

Tiempo de vuelo

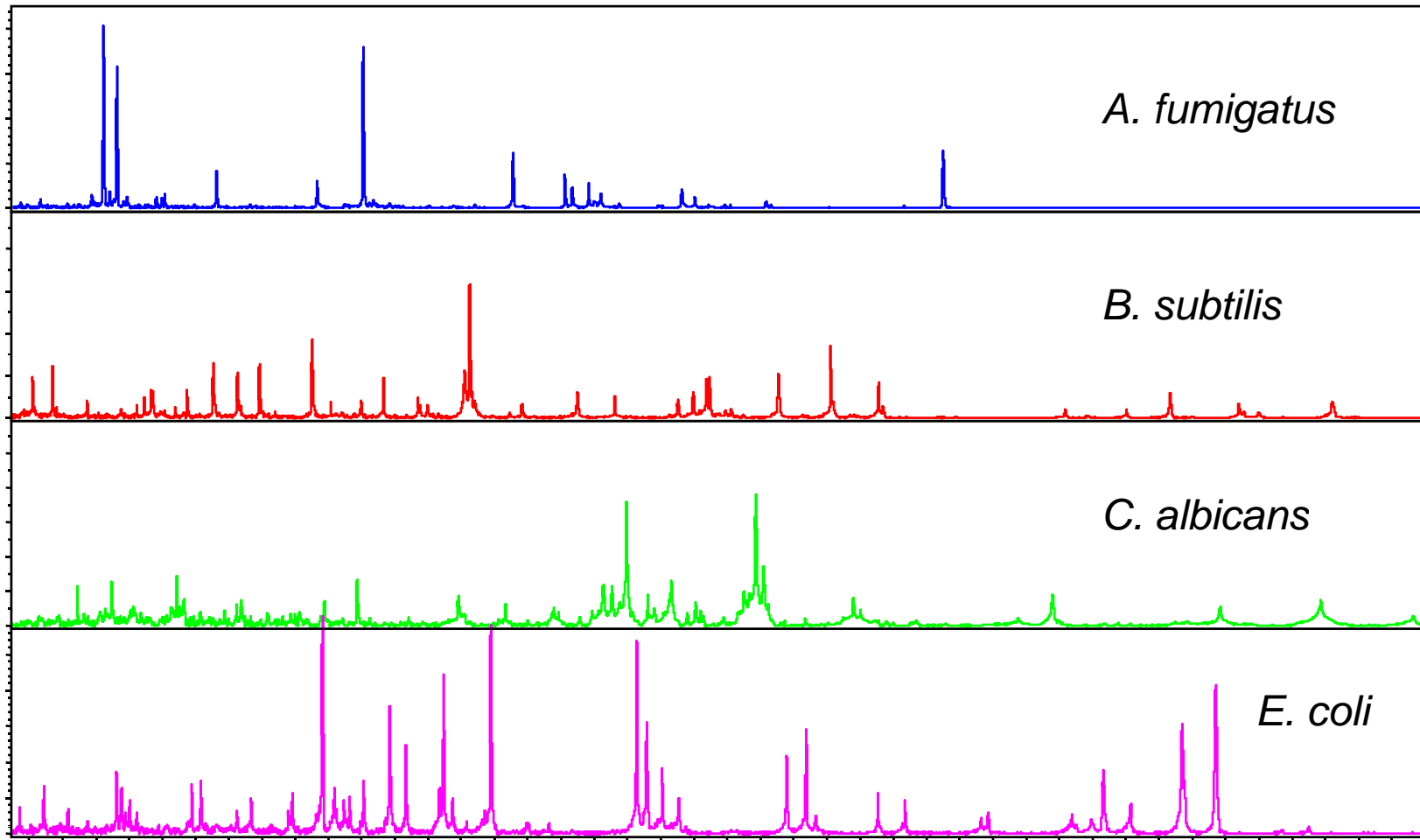


MALDI-TOF DE BIOMERIEUX



Aplicación del MALDI Biotyper en Microbiología Clínica

Bacterias gram+ y gram-, levaduras y mohos



Identificación directa desde el hemocultivo

D—302

45th Annual IOAA/IOSA 45th Annual Meeting
Washington, DC – October 26-29, 2008

Rapid Identification of Bacteria from Blood Cultures using MALDI-TOF MS

T. MAIER¹, G. SCHWARZ¹, M. KOSTRZEWA¹, A.-M. FAHR², M. HOLFELDER³, U. EIGNER³, S. G. GATERMANN³, F. SZABADOS⁴, C. BOOGEN⁴, and U. WELLER⁴

¹Bruker Daltonik GmbH, Bremen/Leipzig, Germany, ²Lab. Limbach, Heidelberg, Germany, ³Inst. Hygiene u. Mikrobiologie, Ruhr-University Bochum, Germany, ⁴Lab. Dr. C. Boogen, Cologne, Germany

Contact information:
Dr. Markus Kostrzewa
Bruker Daltonik GmbH
Permoserstrasse 15
04318 Leipzig, Germany
Email: km@bdal.de

Abstract

Background: Culturing blood for detection of bacteria is a most important diagnostic investigation. Fast processing of samples is desirable to enable early selection of a suitable antibiotic treatment. This usually takes 1-2 days after the culture bottle is flagged positive. ID methods enabling to bypass subculture have been developed in recent years, but they are expensive, labor-intensive, and still time consuming.

Methods: 54 positive blood culture bottles (BD BACTEC PLUS) were subcultured and submitted to biochemical workup as reference method. 1 ml culture was transferred from the bottle into a 2.6 ml serum vial with clot activator (Greiner Vacuette) and centrifuged at 3000 rpm for 10 min. Thereby, blood cells and bacteria were separated. The latter were recovered and washed in deionized water. Proteins were extracted by formic acid / acetonitrile. 1 µl of the extract was spotted onto a MALDI sample target. Matrix (HCCA) was added and MALDI-TOF mass spectra were acquired using a Bruker microflex LT instrument. Bacteria were identified using the MALDI Biotyper 2.0 software.

Results: The direct MALDI-TOF approach resulted in 41 identifications (75.9%) identical with those obtained from the standard workflow. Two further samples (3.7%) were correctly identified but with a reliability score below the given threshold. Three sample identifications (5.6%) were discordant on the species- but identical on the genus-level. Eight blood cultures (14.8%) did not allow a successful direct identification.

Conclusions: The described method enables a laboratory to provide the physician very quickly with reliable identification results of bacteria from blood cultures. Results are available up to 2 days earlier compared to current routine procedures, thus improving patient care greatly.

Introduction

MALDI-TOF MS has been shown to be a well suited technology for identification of clinical relevant microorganisms. Usually, the starting point for analysis is a pure culture, i.e. a colony from an agar plate. Here, we demonstrate the extension of the method for direct analysis of bacteria from positive blood cultures after rapid isolation of the microorganisms from the culture medium, leading to a significantly reduced analysis time for this important clinical application.

Methods

The scheme of bacterial cell isolation from positive blood cultures and subsequent formic acid/acetonitrile extraction is depicted in Figure 1. One µl of the bacterial extract was spotted onto a MALDI sample target, overlaid with HCCA matrix, and dried on air. Profile spectra for the unknown samples were measured in a microflex LT mass spectrometer (2000-20000 Da, linear positive mode). These molecular fingerprints were compared with a reference database for ID using the MALDI Biotyper 2.0 software (Fig. 2).

Results

The result of the analysis of 54 clinical samples is shown in table 1. Direct analysis of blood cultures resulted in 41 identifications (75.9%) identical with those obtained from the standard workflow, two additional samples were correctly identified but with a reliability score below the given threshold for species identification ("no MALDI ID" in table 1). Three sample identifications were discordant on the species- but identical on the genus-level while eight blood cultures (14.8%) did not allow a successful direct identification.



Figure 1: Identification of microorganisms by MALDI Biotyper molecular fingerprint analysis

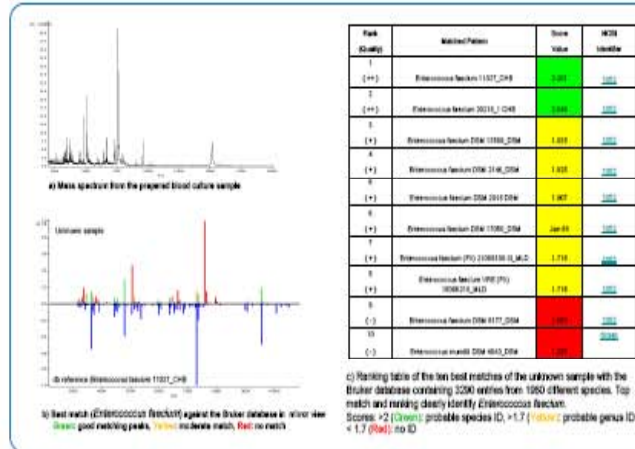


Figure 2: Identification of a bacterium from blood culture by the MALDI Biotyper software

Table 1: Result of the direct analysis of 54 positive blood cultures

Bacterial ID	Standard MALDI ID	Direct MALDI ID	No MALDI ID
Streptococcus faecalis	0	0	1
Streptococcus anginosus	1	0	0
Streptococcus faecalis (2)	2	0	1
Streptococcus faecalis (3)	2	0	0
Streptococcus oralis (1)	10	0	0
Streptococcus oralis (2)	0	0	1
Streptococcus oralis (3)	1	0	0
Streptococcus oralis (4)	1	0	0
Streptococcus oralis (5)	1	0	0
Streptococcus oralis (6)	1	0	0
Streptococcus oralis (7)	0	0	1
Streptococcus oralis (8)	0	0	0
Streptococcus oralis (9)	0	0	1
Streptococcus oralis (10)	0	0	1
Streptococcus oralis (11)	0	0	1
Streptococcus oralis (12)	0	0	1
Streptococcus oralis (13)	0	0	1
Streptococcus oralis (14)	0	0	1
Streptococcus oralis (15)	0	0	1
Streptococcus oralis (16)	0	0	1
Streptococcus oralis (17)	0	0	1
Streptococcus oralis (18)	0	0	1
Streptococcus oralis (19)	0	0	1
Streptococcus oralis (20)	0	0	1
Streptococcus oralis (21)	0	0	1
Streptococcus oralis (22)	0	0	1
Streptococcus oralis (23)	0	0	1
Streptococcus oralis (24)	0	0	1
Streptococcus oralis (25)	0	0	1
Streptococcus oralis (26)	0	0	1
Streptococcus oralis (27)	0	0	1
Streptococcus oralis (28)	0	0	1
Streptococcus oralis (29)	0	0	1
Streptococcus oralis (30)	0	0	1
Streptococcus oralis (31)	0	0	1
Streptococcus oralis (32)	0	0	1
Streptococcus oralis (33)	0	0	1
Streptococcus oralis (34)	0	0	1
Streptococcus oralis (35)	0	0	1
Streptococcus oralis (36)	0	0	1
Streptococcus oralis (37)	0	0	1
Streptococcus oralis (38)	0	0	1
Streptococcus oralis (39)	0	0	1
Streptococcus oralis (40)	0	0	1
Streptococcus oralis (41)	0	0	1
Streptococcus oralis (42)	0	0	1
Streptococcus oralis (43)	0	0	1
Streptococcus oralis (44)	0	0	1
Streptococcus oralis (45)	0	0	1
Streptococcus oralis (46)	0	0	1
Streptococcus oralis (47)	0	0	1
Streptococcus oralis (48)	0	0	1
Streptococcus oralis (49)	0	0	1
Streptococcus oralis (50)	0	0	1
Streptococcus oralis (51)	0	0	1
Streptococcus oralis (52)	0	0	1
Streptococcus oralis (53)	0	0	1
Streptococcus oralis (54)	0	0	1
Streptococcus oralis (55)	0	0	1
Streptococcus oralis (56)	0	0	1
Streptococcus oralis (57)	0	0	1
Streptococcus oralis (58)	0	0	1
Streptococcus oralis (59)	0	0	1
Streptococcus oralis (60)	0	0	1
Streptococcus oralis (61)	0	0	1
Streptococcus oralis (62)	0	0	1
Streptococcus oralis (63)	0	0	1
Streptococcus oralis (64)	0	0	1
Streptococcus oralis (65)	0	0	1
Streptococcus oralis (66)	0	0	1
Streptococcus oralis (67)	0	0	1
Streptococcus oralis (68)	0	0	1
Streptococcus oralis (69)	0	0	1
Streptococcus oralis (70)	0	0	1
Streptococcus oralis (71)	0	0	1
Streptococcus oralis (72)	0	0	1
Streptococcus oralis (73)	0	0	1
Streptococcus oralis (74)	0	0	1
Streptococcus oralis (75)	0	0	1
Streptococcus oralis (76)	0	0	1
Streptococcus oralis (77)	0	0	1
Streptococcus oralis (78)	0	0	1
Streptococcus oralis (79)	0	0	1
Streptococcus oralis (80)	0	0	1
Streptococcus oralis (81)	0	0	1
Streptococcus oralis (82)	0	0	1
Streptococcus oralis (83)	0	0	1
Streptococcus oralis (84)	0	0	1
Streptococcus oralis (85)	0	0	1
Streptococcus oralis (86)	0	0	1
Streptococcus oralis (87)	0	0	1
Streptococcus oralis (88)	0	0	1
Streptococcus oralis (89)	0	0	1
Streptococcus oralis (90)	0	0	1
Streptococcus oralis (91)	0	0	1
Streptococcus oralis (92)	0	0	1
Streptococcus oralis (93)	0	0	1
Streptococcus oralis (94)	0	0	1
Streptococcus oralis (95)	0	0	1
Streptococcus oralis (96)	0	0	1
Streptococcus oralis (97)	0	0	1
Streptococcus oralis (98)	0	0	1
Streptococcus oralis (99)	0	0	1
Streptococcus oralis (100)	0	0	1
Streptococcus oralis (101)	0	0	1
Streptococcus oralis (102)	0	0	1
Streptococcus oralis (103)	0	0	1
Streptococcus oralis (104)	0	0	1
Streptococcus oralis (105)	0	0	1
Streptococcus oralis (106)	0	0	1
Streptococcus oralis (107)	0	0	1
Streptococcus oralis (108)	0	0	1
Streptococcus oralis (109)	0	0	1
Streptococcus oralis (110)	0	0	1
Streptococcus oralis (111)	0	0	1
Streptococcus oralis (112)	0	0	1
Streptococcus oralis (113)	0	0	1
Streptococcus oralis (114)	0	0	1
Streptococcus oralis (115)	0	0	1
Streptococcus oralis (116)	0	0	1
Streptococcus oralis (117)	0	0	1
Streptococcus oralis (118)	0	0	1
Streptococcus oralis (119)	0	0	1
Streptococcus oralis (120)	0	0	1
Streptococcus oralis (121)	0	0	1
Streptococcus oralis (122)	0	0	1
Streptococcus oralis (123)	0	0	1
Streptococcus oralis (124)	0	0	1
Streptococcus oralis (125)	0	0	1
Streptococcus oralis (126)	0	0	1
Streptococcus oralis (127)	0	0	1
Streptococcus oralis (128)	0	0	1
Streptococcus oralis (129)	0	0	1
Streptococcus oralis (130)	0	0	1
Streptococcus oralis (131)	0	0	1
Streptococcus oralis (132)	0	0	1
Streptococcus oralis (133)	0	0	1
Streptococcus oralis (134)	0	0	1
Streptococcus oralis (135)	0	0	1
Streptococcus oralis (136)	0	0	1
Streptococcus oralis (137)	0	0	1
Streptococcus oralis (138)	0	0	1
Streptococcus oralis (139)	0	0	1
Streptococcus oralis (140)	0	0	1
Streptococcus oralis (141)	0	0	1
Streptococcus oralis (142)	0	0	1
Streptococcus oralis (143)	0	0	1
Streptococcus oralis (144)	0	0	1
Streptococcus oralis (145)	0	0	1
Streptococcus oralis (146)	0	0	1
Streptococcus oralis (147)	0	0	1
Streptococcus oralis (148)	0	0	1
Streptococcus oralis (149)	0	0	1
Streptococcus oralis (150)	0	0	1
Streptococcus oralis (151)	0	0	1
Streptococcus oralis (152)	0	0	1
Streptococcus oralis (153)	0	0	1
Streptococcus oralis (154)	0	0	1
Streptococcus oralis (155)	0	0	1
Streptococcus oralis (156)	0	0	1
Streptococcus oralis (157)	0	0	1
Streptococcus oralis (158)	0	0	1
Streptococcus oralis (159)	0	0	1
Streptococcus oralis (160)	0	0	1
Streptococcus oralis (161)	0	0	1
Streptococcus oralis (162)	0	0	1
Streptococcus oralis (163)	0	0	1
Streptococcus oralis (164)	0	0	1
Streptococcus oralis (165)	0	0	1
Streptococcus oralis (166)	0	0	1
Streptococcus oralis (167)	0	0	1
Streptococcus oralis (168)	0	0	1
Streptococcus oralis (169)	0	0	1
Streptococcus oralis (170)	0	0	1
Streptococcus oralis (171)	0	0	1
Streptococcus oralis (172)	0	0	1
Streptococcus oralis (173)	0	0	1
Streptococcus oralis (174)	0	0	1
Streptococcus oralis (175)	0	0	1
Streptococcus oralis (176)	0	0	1
Streptococcus oralis (177)	0	0	1
Streptococcus oralis (178)	0	0	1
Streptococcus oralis (179)	0	0	1
Streptococcus oralis (180)	0	0	1
Streptococcus oralis (181)	0	0	1
Streptococcus oralis (182)	0	0	1
Streptococcus oralis (183)	0	0	1
Streptococcus oralis (184)	0	0	1
Streptococcus oralis (185)	0	0	1
Streptococcus oralis (186)	0	0	1
Streptococcus oralis (187)	0	0	1
Streptococcus oralis (188)	0	0	1
Streptococcus oralis (189)	0	0	1
Streptococcus oralis (190)	0	0	1
Streptococcus oralis (191)	0	0	1
Streptococcus oralis (192)	0	0	1
Streptococcus oralis (193)	0	0	1
Streptococcus oralis (194)	0	0	1
Streptococcus oralis (195)	0	0	1
Streptococcus oralis (196)	0	0	1
Streptococcus oralis (197)	0	0	1
Streptococcus oralis (198)	0	0	1
Streptococcus oralis (199)	0	0	1
Streptococcus oralis (200)	0	0	1

Conclusions

- MALDI-TOF MS profiling enables a very quick and reliable identification of bacteria from positive blood cultures.
- Results are available up to 2 days earlier compared to current routine procedures
- The method thereby may significantly improve patient care.

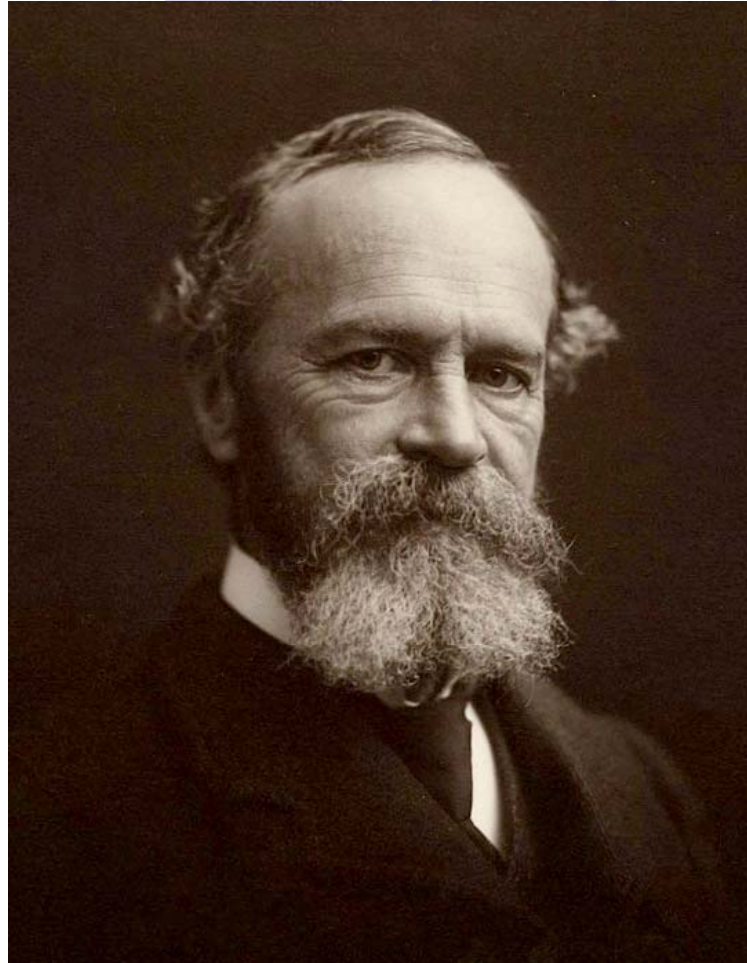
MALDI Biotyper

Tasa de identificación del 78%

Conclusiones



1. Las técnicas de biología molecular tienen ventajas e inconvenientes, y por lo tanto: indicaciones
2. No sustituyen, en muchos casos, a las técnicas convencionales
3. Son mas rápidas que las técnicas convencionales, pero no instantáneas
4. Son más laboriosas y costosas
5. Permiten diagnosticar mayor número de gérmenes
6. Existen otras técnicas igual de eficaces



William James, fundador de la psicología funcional, 1880

“No hay mayor mentira que la verdad mal entendida”