

Automatización de una técnica molecular para tipificación de *Staphylococcus aureus* de aislados nosocomiales de población pediátrica

Rodríguez, Fátima¹, Guillén, Rosa², Salinas Claudia³, Acuña, Patricia⁴, Melisa Florentin⁵
farrodriguez288@gmail.com¹, rmguillen@gmail.com², salinasdavalos@gmail.com³, pati92mad@gmail.com⁴, karenflor-92@hotmail.com⁵
Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay
PROGRAMA PROCIENCIA – CONVOCATORIA 2015 – PINV 15-101

RESUMEN

La epidemiología compleja del *S. aureus* requiere técnicas moleculares combinadas para su análisis. Este estudio observacional, descriptivo para pruebas diagnósticas, tuvo como objetivo automatizar una metodología para tipificación de *S. aureus*, empleando aislados de población pediátrica nosocomial del HC-IPS, año 2013, previamente caracterizados fenotípica y genotípicamente. La realización del mismo aportó la validación de una técnica molecular automatizada, rápida y robusta que posibilitará el análisis epidemiológico de situaciones probables de brotes entre de pacientes infectados con aislados virulentos y por tanto la toma de medidas eficientes para evitar complicaciones graves.

INTRODUCCIÓN

La epidemiología compleja del *S. aureus* requiere el empleo de técnicas moleculares para su estudio. En este sentido, la MLVA (*Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis*) ha sido utilizada para análisis de variabilidad genética de *S. aureus* empleando una variante de PCR múltiple que amplifica 7 regiones intragénicas con número variable de repeticiones en tándem (VNTR), validado a nivel internacional. Este trabajo permitió la automatización de la MLVA, empleando aislados de *S. aureus* nosocomiales de pacientes pediátricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: Observacional descriptivo pruebas diagnósticas.

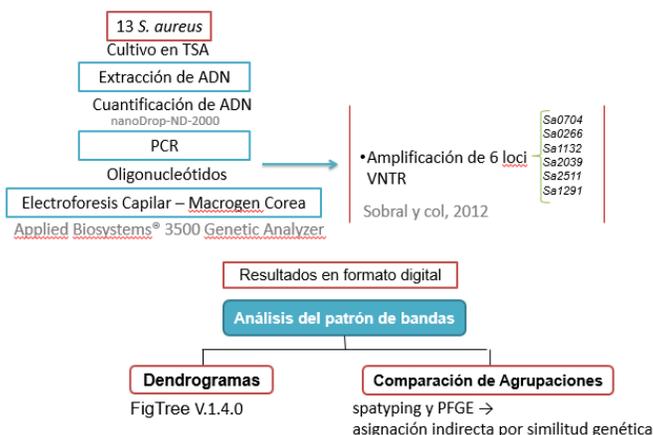


Figura 1: Flujograma del proyecto

RESULTADOS

Se logró de manera óptima la determinación de perfiles alélicos por MLVA automatizado en el 100% de los aislados en estudio, de forma concordante con otras técnicas de tipificación molecular (PFGE; spa typing, MLST).

El tiempo para la obtención de los patrones de bandas por la técnica automatizada fue mucho menor que en el formato manual, aumentando de esta forma la eficiencia en el tiempo de respuesta.

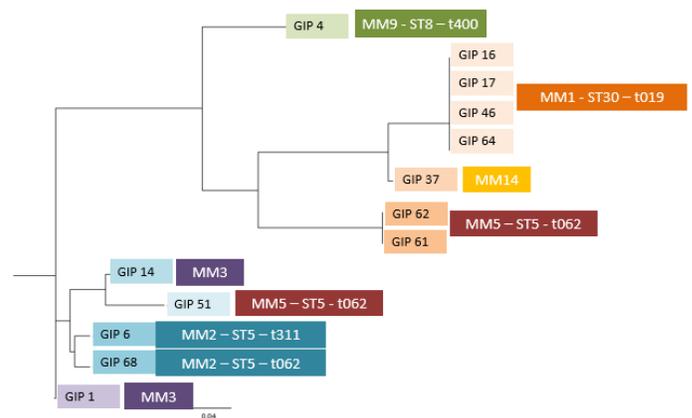


Figura 2: Dendrograma obtenido con resultados MLVA automatizado en comparación con resultados de PFGE, MLVA manual, MLST y spa typing.

Los cálculos estadísticos entre ambas metodologías arrojaron un nivel de concordancia del 100% con índice Kappa igual a 1,0 en el proceso de estandarización de la MLVA automatizada con las 5 cepas de referencia. Los niveles de sensibilidad de la técnica ascienden al 92,9% y un nivel de especificidad del 100%, con valor predictivo positivo del 100% y valor predictivo negativo de 92,3%, con un nivel de exactitud del 96,2%.

CONCLUSIONES

En este proyecto se logró la automatización de la técnica MLVA para la tipificación de aislados de *S. aureus*, disponible desde ahora en nuestro país para análisis ante sospechas de brotes por *S. aureus* de cualquier procedencia (colectados de niños, adultos, animales, medio ambiente), de rápida y fácil ejecución, con altos niveles de concordancia con otras técnicas de tipificación molecular.

REFERENCIAS

Sobral D, Schwarz S, Bergonier D, Brisabois A, Feßler AT, Gilbert FB, et al. High Throughput Multiple Locus Variable Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) of *Staphylococcus aureus* from Human, Animal and Food Sources. 2012;7(5):e33967.