Instituto Universitario de Investigación Mixto
Agroalimentario de Aragón
Universidad Zaragoza

SEMINARIO

Otros servicios del IA2 y futuras actividades de apoyo a la investigación

- Extracción de ácidos nucleicos mediante partículas magnéticas
- PCR digital: Detección y cuantificación absoluta de ácidos nucleicos
- Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE)
- Identificación microbiana y de evaluación de la susceptibilidad antibióticos
- Espectrometría de masas*

Mª Jesús Serrano Andrés

mjserran@unizar

22 de noviembre de 2022

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS MEDIANTE PARTÍCULAS MAGNÉTICAS CON EL SISTEMA KING FISHER DUO PRIME (Thermo Fisher)

Responsables del servicio:
Luis Vicente Monteagudo Ibáñez / Joaquín Quílez Cinca

1. Extracción de ácidos nucléicos

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

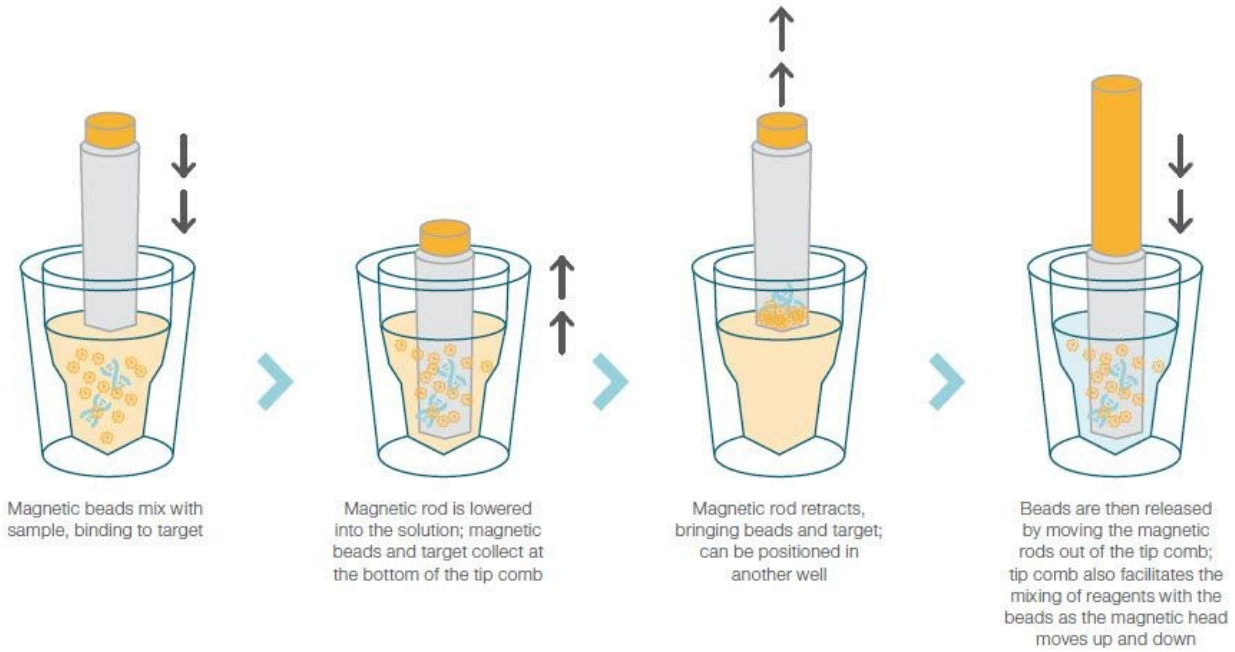
Extracción de ácidos nucleicos (y proteínas) **mediante partículas magnéticas en muestras complejas:**

-Baja concentración.

-Contaminantes químicos.

-Dificultades especiales (tejidos de gran dureza, ooquistes, esporas y otras estructuras de resistencia).

-NO UTILIZABLE POR USUARIOS DE MARCAPASOS CARDIACOS (RIESGO MAGENÉTICO)



1. Extracción de ácidos nucléicos

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Elementos básicos del sistema:

-El propio aparato King Fisher duo prime.
-Kit específico para la aplicación deseada (RNA/DNA, RNA, DNA).
-Material de Plástico especifico y exclusivo (versiones 6 y 12 muestras)
-Protocolo informático específico (gratuito).

Guía de selección de kits de purificación automatizada de KingFisher

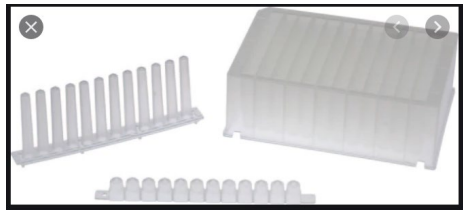
Encuentre el kit basado en gránulos magnéticos adecuado para la preparación de muestras automatizada.

Hay kits disponibles para recuperación de ARN total, microARN (miARN), ARNm, ADN genómico, ADN libre de células y proteína A, G y estreptavidina para inmunoprecipitación. (unos 30 kits)

Paquete combinado KingFisher para placa Microtiter 96 Deepwell

incluye 8 placas, peines de 12 puntas y 8 tiras de elución y tapones).

Material indivisible: en cada uso se gasta una placa, un peine y una tira de elución, se extraiga una o 12 muestras



Programas específicos para cada aplicación.

Se bajan de la web de Thermo Fisher y se instalan en el aparato con un pendrive

1. Extracción de ácidos nucléicos

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

PRECIOS

PRESTACIÓN	TARIFA INTERNA	TARIFA OPI*	TARIFA EXTERNA*
Extracción completa de 12 muestras o fracción (el personal del servicio siempre supervisa el uso del equipo)	143.12 €	177.56 €	200.92 €
Precios por Análisis individual muestra:			
Coste fijo de material de plástico desechable (unidad para 12 muestras, indivisible)	14,52 €	16,70 €	16,70 €
Coste adicional por extracción y análisis muestra sin incluir el coste fijo de material ni costes de personal	9,58 €/muestra	11,01 €/muestra	11,01 €/muestra
Coste de mano de obra por extracción de muestra	3,80 €/ muestra	5,70 €/ muestra	9,12 €/ muestra
** * Precio por Análisis de muestras en autoservicio con fungible propio:*			
Tarifa por hora	14,6€/hora	24,33€/hora	29,22€/hora
Tarifa por módulos de 30 minutos (mínimo)	7,30 €/30min.	12,13 €/30min.	14,56 €/30min.
* La tarifa aplicable a OPI y usuarios externos que se propone, incluye ya el porcentaje aplicable por costes indirectos			

USO HABITUAL

-No introducir ningún objeto metálico.

-No apto para usuarios de marcapasos.

-**Unos 30 minutos de preparación de las placas** (incluyendo molturación en bead beater).

-**Los programas duran unos 30-35 minutos** (es posible preparar una placa mientras se extrae la anterior).

.

1. Extracción de ácidos nucléicos

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Pancreatology 21 (2021) 1030–1037

Contents lists available at ScienceDirect

Pancreatology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pan

Analysis of circulating cell-free DNA after endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration in pancreatic ductal adenocarcinoma

Kosho Asano [a], Rintaro Mikata [a,*], Tetsuhiro Chiba [a], Motoyasu Kan [a], Shikiko Maruta [a], Toshihito Yamada [a], Yoshifumi Miura [a], Yukiko Shima [a], Miyuki Sensui [a], Hiroki Nagashima [a], Masayuki Yokoyama [a], Hiroshi Ohyama [a,b], Yuko Kusakabe [a], Shin Yasui [a], Harutoshi Sugiyama [a], Izumi Ohno [a], Jun Kato [a], Shigetsugu Takano [c], Masayuki Ohtsuka [c], Naoya Kato [a]

Veterinary and Animal Science 14 (2021) 100217

Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary and Animal Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vas

Impact of *Escherichia coli* probiotic strains ED1a and Nissle 1917 on the excretion and gut carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* in pigs

Gwénaëlle Mourand [a], Frédéric Paboeuf [a], Pauline Grippon [a], Pierrick Lucas [a], Stéphanie Bougeard [a], Erick Denamur [b,c], Isabelle Kempf [a,*]

Genomics 113 (2021) 3430–3438

Contents lists available at ScienceDirect

Genomics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ygeno

Novel genome reveals susceptibility of popular gamebird, the red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Phasianidae), to climate change

Balaji Chattopadhyay [a,b,1], Giovanni Forcina [a,c,d,1,1], Kritika M. Garg [a,e], Martin Irestedt [f], Monica Guerrini [c], Filippo Barbanera [c,g,**,2], Frank E. Rheindt [a,*,2]

Células eucariotas, procariotas, virus, etc.

International Journal of Food Microbiology 333 (2020) 108831

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Food Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro

Prediction of *Salmonella* serovars isolated from clinical and food matrices in Lebanon and genomic-based investigation focusing on Enteritidis serovar

Marie Noel Mansour [a,1], Joseph Yaghi [a,1], André El Khoury [a], Arnaud Felten [b], Michel-Yves Mistou [c], Ali Atoui [d], Nicolas Radomski [b,*]

CellPress

Cell

Article

Enteric helminth coinfection enhances host susceptibility to neurotropic flaviviruses via a tuft cell-IL-4 receptor signaling axis

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

PCR digital:

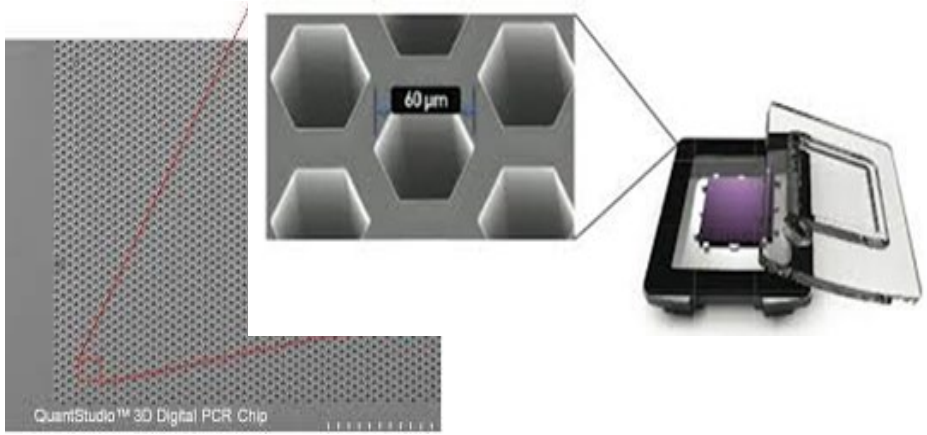
Detección y cuantificación absoluta de ácidos nucleicos.

Responsable del servicio:

Clementina Rodellar Penella

PCR digital: ¿Qué es?

- Técnica analítica que permite la cuantificación absoluta de ácidos nucleicos, mediante la partición de la muestra en miles de sub-réplicas (chip de 20.000 pocillos).



- Se realiza una PCR individual en cada uno de los 20.000 pocillos que se categorizan como positivas o negativas dependiendo de si contienen o no la molécula objetivo (binario/digital).
- Tras la PCR, la amplificación o no de las sub-réplicas se usa para generar un recuento absoluto del número de moléculas de la muestra, sin necesidad de estándares ni controles endógenos.

Esquema flujo general de trabajo

Obtención de ácidos nucleicos

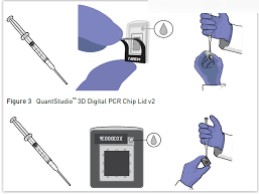
Diversas matrices y soportes (calidad y cantidad).

Preparación mezcla reacción PCR

Material	Volume (µL)	Stock	Final
QuantStudio™ 3D Digital PCR Master Mix, 2X	7.25	2X	1X
TaqMan® Assay, 20X (primer/probe mix)	0.725	20X	1X
Diluted DNA	1.5	23 ng/µL*	2.3 ng/µL*
Water	5.025	-	-
Total volume (sample/1 chip)	14.5	* Just an example, it will depend on the application	

(Diseño Taqman de RT-qPCR)

Carga chip

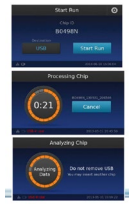


Paso que requiere más manipulación y cuidado

Termociclado

Step		Temp (°C)	Time (mm:ss)
Hold	Polymerase activation	96.0	10:00
Cycling (39 cycles)	Anneal/extend	60.0	2:00
	Denature	98.0	00:30
Hold	Final extension	60.0	2:00
Hold (optional)	Storage	10.0	99:59

Lectura chips

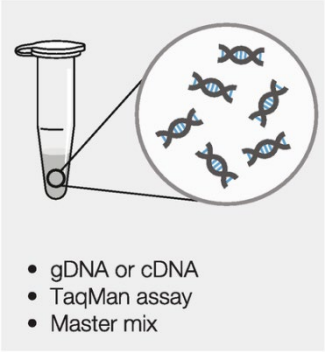


Menos de 1 minuto

Análisis de resultados en la nube (Thermofisher)

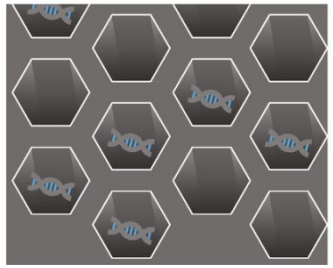
1º

Preparation

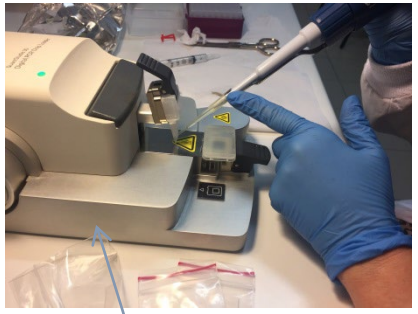


2º

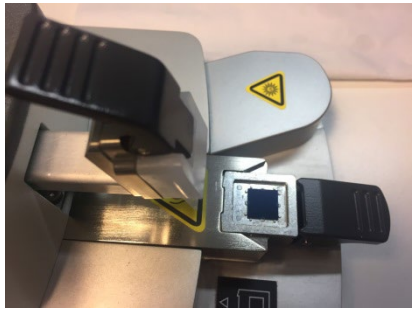
Distribution



Chip v2/ 20.000 pocillos

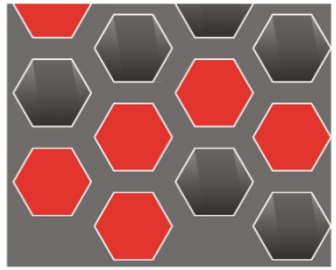


QuantStudio 3D Digital PCR chip loader



3º

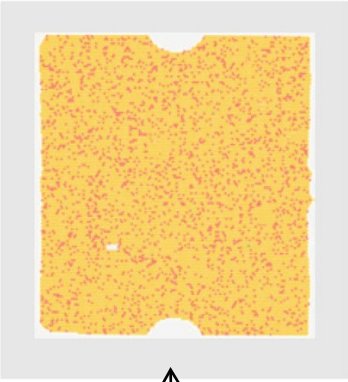
Amplification

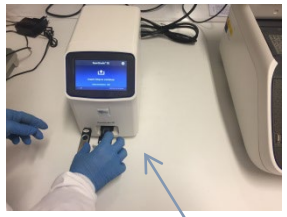


Proflex PCR System

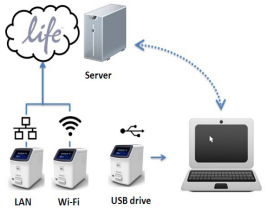
4º

Quantification





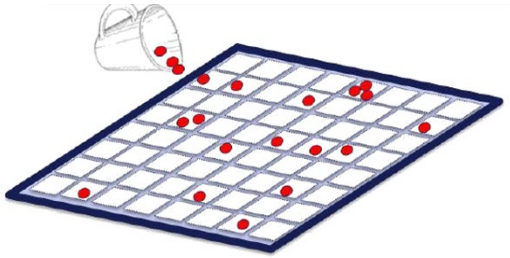
Quantstudio 3D PCR digital system



La PCR digital permite realizar cuantificaciones absolutas (nº de copias por unidad de volumen) sin usar una curva estándar

1- Contar número de pocillos negativos y positivos en el chip

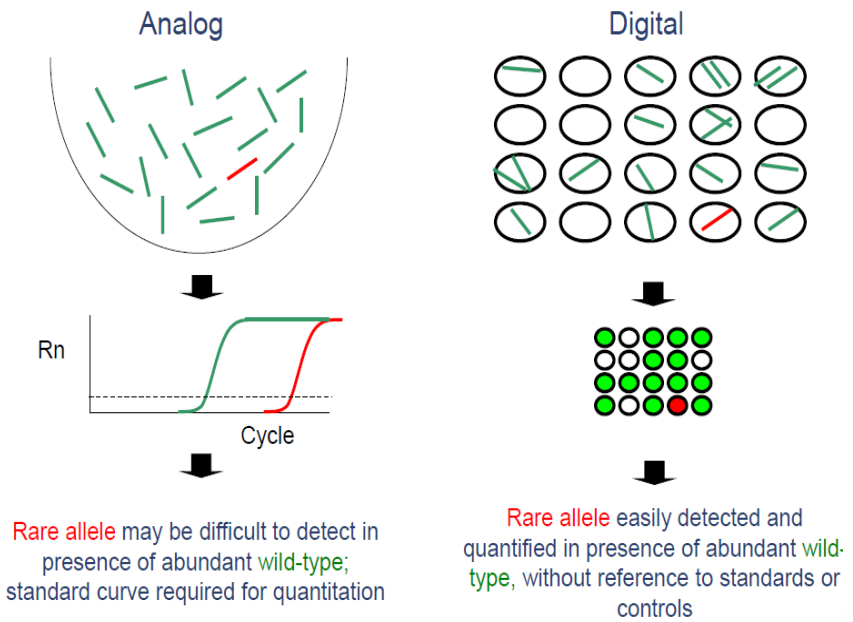
2- Aplicar la corrección de Poisson (para corregir los pocillos que pueden haber recibido más de una molécula de la secuencia objetivo, se aplica un factor de corrección mediante el modelo de Poisson. Implementado en el software de Applied Biosystem).



applied biosystems™

VENTAJAS DE LA PCR DIGITAL

(vs RT-PCR)



- ✓ No es necesario depender de referencias o estándares.
- ✓ Determinación absoluta y precisa del número de copias.
- ✓Alta tolerancia a los inhibidores y capacidad para analizar mezclas complejas.
- ✓ Transferencia sencilla de ensayos de qPCR a dPCR.
- ✓ Detección de pequeños cambios de expresión.
- ✓Comparada con la qPCR a tiempo real es, más sensible , específica y precisa.

Aplicaciones de PCR digital

Cuantificación absoluta:

Medida del número de copias por unidad de volumen sin necesidad de curva estándar.

- Cuantificación de la carga viral.
- Cuantificación y generación de estándares y de referencia.
- Detección de patógenos de bajo nivel.
- Detección y cuantificación de organismos modificados genéticamente (GMO).

Cuantificación relativa:

Esta aplicación permite cuantificar la cantidad de un objetivo en relación con el material genético total.

.

- Variación del número de copias de alta precisión (CNVs).
- Análisis de mutaciones raras.
- Detección de pequeñas diferencias de expresión génica.

Bibliografía: utilización PCR digital

Control alimentario de fraudes, trazabilidad

Food Chemistry
Volume 173, 15 April 2015, Pages 1054-1058

Analytical Methods
Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR)

Hindawi Publishing Corporation
BioMed Research International
Volume 2014, Article ID 810209, 6 pages
http://dx.doi.org/10.1155/2014/810209

Research Article
Quantitative Analysis of Pork and Chicken Products by Droplet Digital PCR

Caracterización y utilización de materiales de referencia

Biomol Detect Quantif. 2016 May 3;10:47-49. eCollection 2016.
Digital polymerase chain reaction for characterisation of DNA reference materials.
Bhat S[1], Emslie KR[1].

SCIENTIFIC REPORTS
Article | OPEN | Published: 30 November 2018
Evaluation of droplet digital PCR and next generation sequencing for characterizing DNA reference material for KRAS mutation detection
Lianhua Dong, Shangjun Wang, Boqiang Fu & Jing Wang
Scientific Reports 8, Article number: 9650 (2018) | Download Citation

Detección y cuantificación de microorganismos patógenos

Advances in Microbiology, 2013, 3, 403-411
http://dx.doi.org/10.4236/aim.2013.35055 Published Online September 2013 (http://www.scirp.org/journal/aim)
Scientific Research
Quantification of Zoonotic Bacterial Pathogens within Commercial Poultry Processing Water Samples Using Droplet Digital PCR
Michael J. Rothrock Jr.[1*], Kelli L. Hiett[2], Brian H. Kiepper[3], Kim Ingram[1], Arthur Hinton[1]

frontiers in Microbiology | Food Microbiology
ORIGINAL RESEARCH ARTICLE
Evaluation of Molecular Methods for the Detection and Quantification of Pathogen-Derived Nucleic Acids in Sediment
Kata Farkas[1], Francis Hassard[1], James E. McDonald[1], Shelagh K. Malham[1] and Davey L. Jones[1]

Microbiología alimentaria

Journal of Microbiological Methods
Volume 118, November 2015, Pages 37-41
Quantification of *Listeria monocytogenes* cells with digital PCR and their biofilm cells with real-time PCR

Detección y cuantificación de alérgenos

European Food Research and Technology
February 2019, Volume 245, Issue 2, pp 499–509 | Cite as

Quantification of the allergen soy (*Glycine max*) in food using digital droplet PCR (ddPCR)

Ital J Food Saf. 2018 Dec 31; 7(4): 7264.
Published online 2019 Feb 11. doi: 10.4081/ijfs.2018.7264

Detection of fish allergen by droplet digital PCR

Cuantificación de GMOs

Biomol Detect Quantif. 2019 Mar; 17: 100076. PMCID: PMC6446038
Published online 2019 Feb 11. doi: 10.1016/j.bdq.2018.12.001 PMID: 30984566

Development of event-specific qPCR detection methods for genetically modified alfalfa events J101, J163 and KK179

Anal Bioanal Chem. 2018; 410(17): 4039–4050. PMCID: PMC6010488
Published online 2018 Mar 24. doi: 10.1007/s00216-018-1010-1 PMID: 29574561

Critical assessment of digital PCR for the detection and quantification of genetically modified organisms

Microbiología clínica

Archives of Virology
March 2019, Volume 164, Issue 3, pp 691–697 | Cite as

Development of a sensitive and reliable reverse transcription droplet digital PCR assay for the detection of citrus yellow vein clearing virus

ELSEVIER
Molecular and Cellular Probes
Volume 43, February 2019, Pages 50-57

Development of a droplet digital PCR assay for sensitive detection of porcine circovirus 3

Diagnóstico molecular

BMC Cancer. 2018; 18: 676. PMCID: PMC6013872
Published online 2018 Jun 22. doi: 10.1186/s12885-018-4601-5 PMID: 29929476

Droplet digital PCR-based circulating microRNA detection serve as a promising diagnostic method for gastric cancer

Gaoping Zhao,[1,2,3] Tao Jiang,[1,2] Yanzhuo Liu,[2] Guoli Huai,[2] Chunbin Lan,[1,2] Guiquan Li,[4] Guiqing Jia,[1,2] Kang Wang,[1,2] and Maozhu Yang[2,3,5]

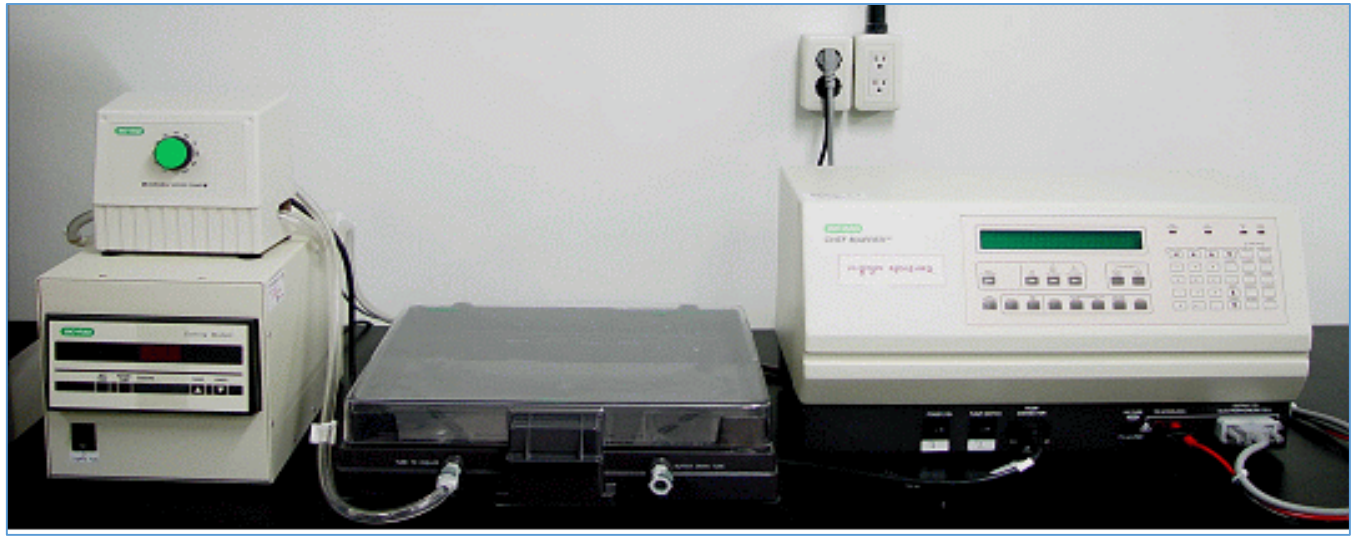
TARIFAS

PRESTACIÓN*	TARIFA INTERNA	TARIFA OPI**	TARIFA EXPERNA**
Cuantificación absoluta de ácidos nucleicos sin curva patrón	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
Estudios de expresión génica	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
Detección y cuantificación de patógenos	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
Detección de especies en alimentos	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
Detección de GMOs	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
Detección de alelos raros	16.5€/chip	32€/chip	48€/chip
* Incluye la carga del chip, la amplificación del DNA y la lectura del chip. No incluye el diseño del experimento			

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Electroforesis en Gel de Campo Pulsado

Pulsed-field Gel Electrophoresis (**PFGE**)



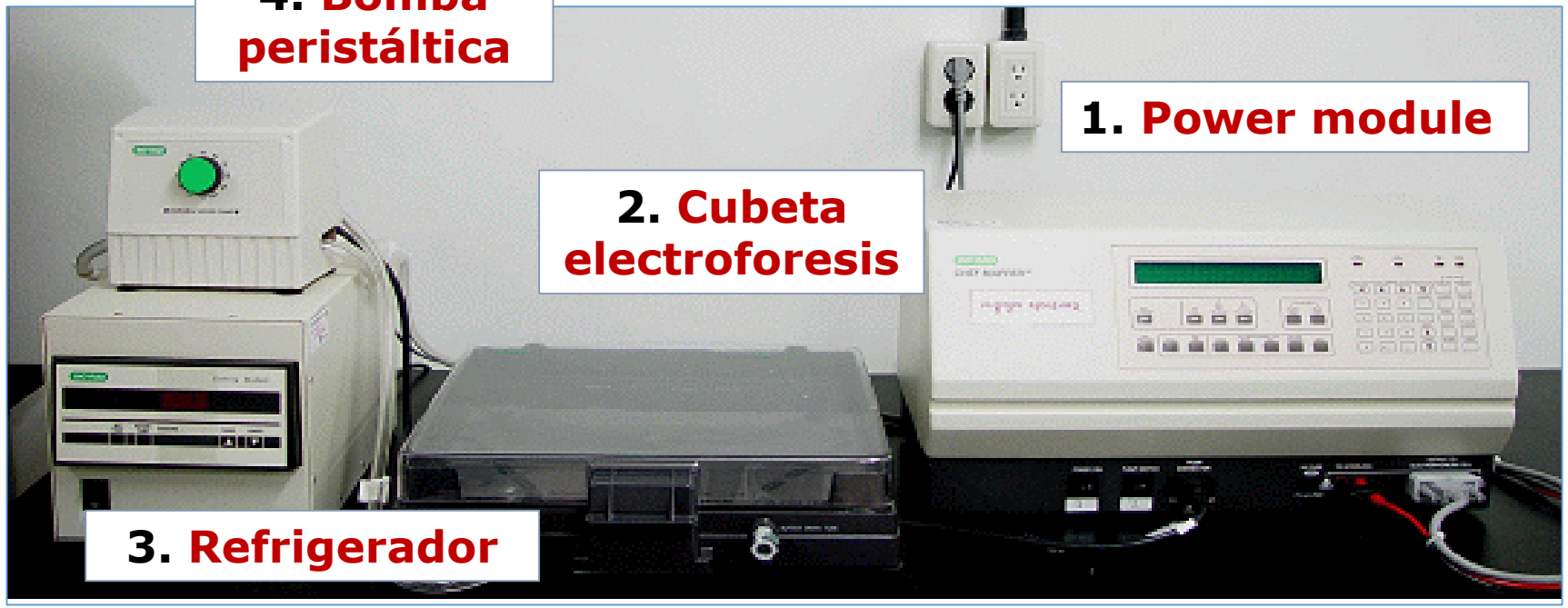
Laboratorio Biología Molecular

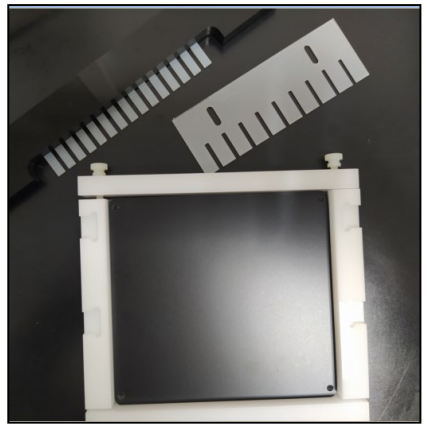
Área Nutrición y Bromatología. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos

Facultad Veterinaria. Universidad de Zaragoza

Carmina Rota /Pilar Conchello

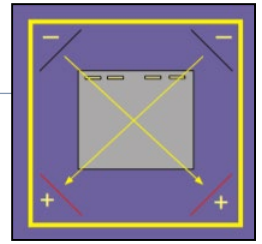
Equipo PFGE-CHEF: módulos





5. Molde /peines

Características técnica PFGE



- **Subtipificación molecular: bacterias**, mohos, levaduras
- **Separar fragmentos de DNA** (10Kb- 11Mb)
- **Dos campos eléctricos alternantes** con **diferente orientación**
  - ✓ **Cambio periódico** de la **dirección** del **campo eléctrico: pulso**
  - ✓ **Moléculas grandes ADN más tiempo alineación que las pequeñas**
  - ✓ **Campo eléctrico misma intensidad y voltaje:** DNA línea recta

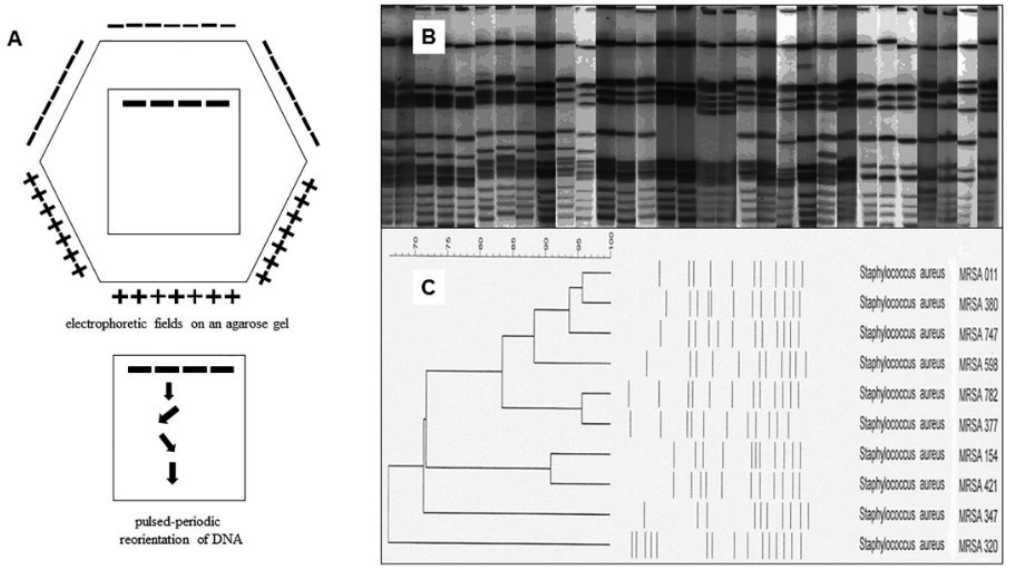


Fig. 1. Schematic diagram of DNA band movement in PFGE, PFGE banding patterns and PFGE dendogram. A) Pulse-periodic reorientation of DNA on a PFGE gel. B) PFGE banding patterns. C) Dendrogram built based on PFGE banding patterns. MRSA 011, MRSA 380 and MRSA 747 have less than 3 band difference in banding patterns and are considered as closely-related strains. MRSA 347 and MRSA 320 have more than seven band difference between them and are considered as unrelated strains.

Review

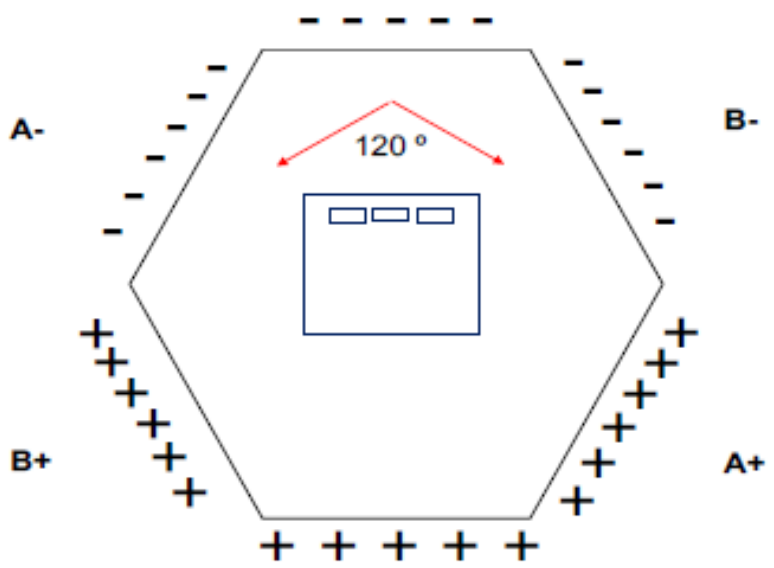
Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the "gold standard" for bacteria typing and current alternatives

Hui-min Neoh [a], Xin-Ee Tan [b], Hassriana Fazilla Sapri [c], Toh Leong Tan [d]

PFGE- CHEF: *Contour-clamped Homogeneous Electric Field*

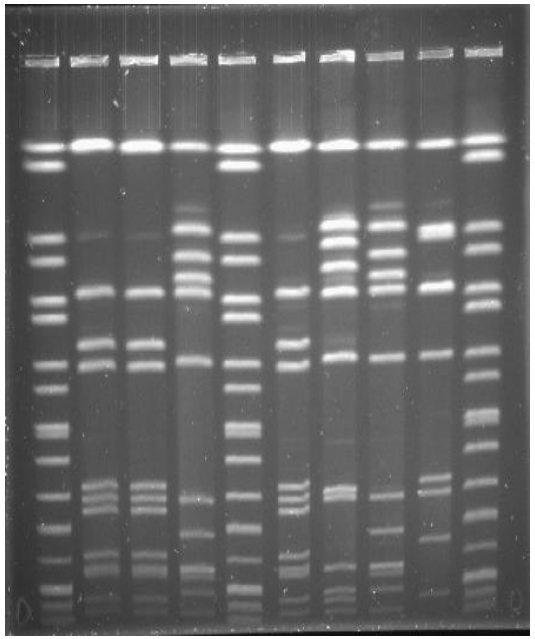
- **Variantes PFGE**: en función de la modificación del campo eléctrico, velocidad de migración y resolución de las bandas.

- Aquí se usa PFGE-CHEF: esquema de distribución de electrodos:



Ventajas:

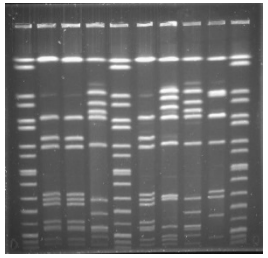
- **Facilidad de uso**
- **Mayor poder de separación**: < 50 Kb - 2 Mb
- **Carriles** electroforéticos **rectilíneos**
- El **patrón de separación** es **independiente** de la **posición** del gel
- **Número** de muestras
- **Poder** de **discriminación/reproducibilidad**



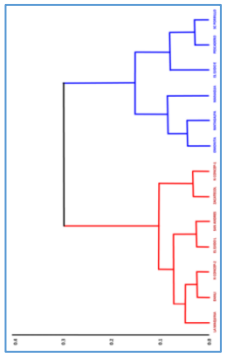
Protocolo de trabajo

Etapas

1. **Extracción** del **DNA** genómico: bloques agarosa
2. **Digestión** del **DNA:** enzimas de restricción
3. **Preparación gel de agarosa** (*Gold Agarose -SeaKem* ®): muestras
4. **Separación** de los **fragmentos de DNA** mediante **PFGE**
5. **Tinción del gel/digitalización** (DCODE™ -BIO-RAD)
6. **Análisis** del **patrón de bandas** mediante un software informático.



UPGMA
Coeficiente de Dice



Dendrograma
Pulsotipos = cepas

Aplicaciones PFGE

- **Epidemiología (hospitales, producción animal, etc.)**
- **Industria alimentaria**

PFGE-CHEF: Método de referencia

***Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)**

Red PulseNet: patógenos alimentarios

https://ia2.unizar.es/servicio/electroforesis-en-gel-de-campos-pulsados-pfge

Infection, Genetics and Evolution 74 (2019) 103935

Contents lists available at ScienceDirect

Infection, Genetics and Evolution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meegid

Review

Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the "gold standard" for bacteria typing and current alternatives

Hui-min Neoh[a,*], Xin-Ee Tan[b], Hassriana Fazilla Sapri[c], Toh Leong Tan[d]

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 45 (2016) 29–33

Contents lists available at ScienceDirect

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cimid

Clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from a Portuguese hospital: PFGE characterization, antibiotic susceptibility and biofilm-forming ability

Andreia Duarte[a], Susana Ferreira[a], Sofia Almeida[a,b], Fernanda C. Domingues[a,*]

Journal of Infection and Chemotherapy 28 (2022) 192–198

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Infection and Chemotherapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jic

Original Article

Molecular characterization of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains by multiplex PCR and PFGE methods: The first *K. pneumoniae* isolates co-producing OXA-48/KPC and KPC/NDM in Turkey

Serpil Genç[a,b,*], Fetiye Kolaylı[b], Eda Yazıcı Özçelik[c]

Journal of Global Antimicrobial Resistance 30 (2022) 148–151

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Global Antimicrobial Resistance

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jgar

Comparing core-genome MLST with PFGE and MLST for cluster analysis of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*

Tingting Li[a,1], Yunxing Yang[b,1], Rushuang Yan[c,d,e], Peng Lan[c,d,e], Haiyang Liu[c,d,e], Ying Fu[f], Xiaoting Hua[c,d,e], Yan Jiang[c,d,e], Zhihui Zhou[c,d,e], Yunsong Yu[c,d,e,*]

Microbial Pathogenesis 159 (2021) 105154

Contents lists available at ScienceDirect

Microbial Pathogenesis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/micpath

Determination of genetic relationship between environmental *Escherichia coli* with PFGE and investigation of IS element in $bla_{CTX\text{-}M}$ gene of these isolates

Saeid Valizadeh[a], Bahman Yousefi[b], Anna Abdolshahi[c], Alireza Emadi[d], Majid Eslami[a,*]

Meat Science 92 (2012) 635–643

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

PFGE characterisation and adhesion ability of *Listeria monocytogenes* isolates obtained from bovine carcasses and beef processing facilities

Newton Nascentes Galvão[a], Eb Chiarini[b], Maria Teresa Destro[b], Márcia de Aguiar Ferreira[c], Luís Augusto Nero[a,*]

TARIFAS

PRESTACIÓN	TARIFA INTERNA	TARIFA OPI*	TARIFA EXTERNA*
Electroforesis en Gel de Campo Pulsado	13,74 €/por lote de 7 muestras	21,50 €/por lote de 7 muestras	23,77 €/por lote de 7 muestras
Preparación gel de agarosa (Gold Agarose -SeaKem ®)	25,03 €/gel	40,17 €/gel	44,73 €/gel
Tinción del gel (Gel Red)	13,98 €/gel	23,67 €/gel	26,70 €/gel

Se prevé incluir la prestación de preparación de los plugs / bloques de agarosa.

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Servicio de identificación microbiológica y evaluación de la susceptibilidad a los antimicrobianos (RA)

Raúl C. Mainar Jaime / Rosa Bolea

Unidad de Microbiología e Inmunología

Facultad de Veterinaria

Material/equipo

1.

DensiCHECK Plus

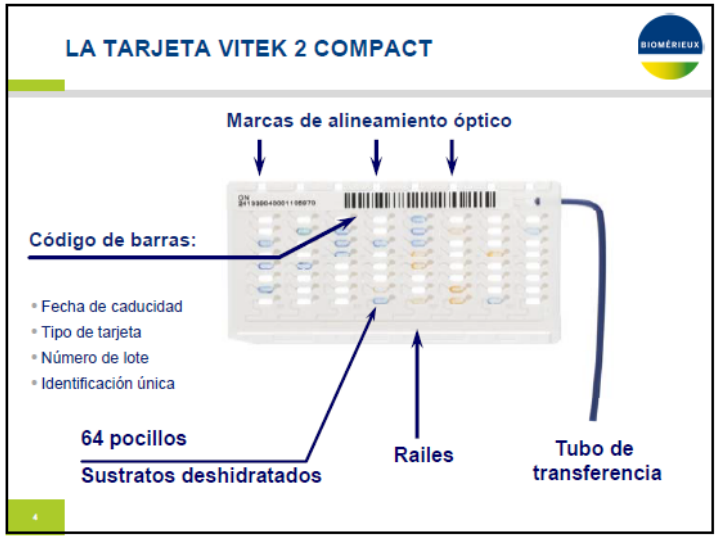
2.

3.

+

Aplicaciones – identificación

- **Tarjeta de identificación VITEK® 2 GN:** bacilos Gram-negativos fermentadores y no fermentadores.
- **Tarjetas de identificación VITEK® 2 GP:** cocos Gram-positivos.
- **Tarjetas de identificación VITEK® 2 YST:** levaduras y organismos similares a levaduras.
- **Tarjetas de identificación VITEK® 2 NH:** *Neisseria*, *Haemophilus* y otras bacterias fastidiosas Gram-negativas.
- **Tarjetas de identificación VITEK® 2 ANC:** bacterias anaerobias y bacterias coryneformes.



Aplicaciones – detección RA

Tarjetas VITEK® 2 AST: detección de resistencias antimicrobianas para una amplia variedad de organismos: Enterobacterias, no fermentadores, estafilococos , enterococos , estreptococos (incluyendo *S. pneumoniae*, *S. viridans* y Estreptococos betahemolíticos) y levaduras.

REF 422 150 — 9313621 - 2017/08 ES

VITEK 2™ — technology **AST-GN98**

Tarjeta de sensibilidad de Gram-Negativos

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

ÚNICAMENTE PARA USO VETERINARIO. La Tarjeta de sensibilidad VITEK® 2 de Gram-Negativos está diseñada para ser utilizada con los sistemas VITEK 2 para determinar la sensibilidad de **bacilos gram-negativos aerobios clínicamente significativos** a los agentes antimicrobianos. Debe utilizarse según las instrucciones del Manual de Información del Producto.

INSTRUCCIONES DE USO

Se incluye una ficha técnica en cada equipo o puede descargarse en **www.biomerieux.com/techlib**

Ver el manual de Información de Producto para Instrucciones de Uso adicionales.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Conservar entre 2° y 8° C.

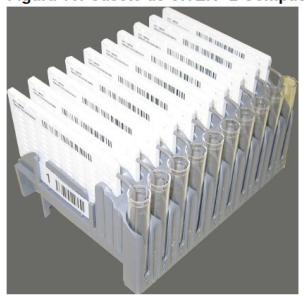
COMPOSICIÓN DE LA TARJETA

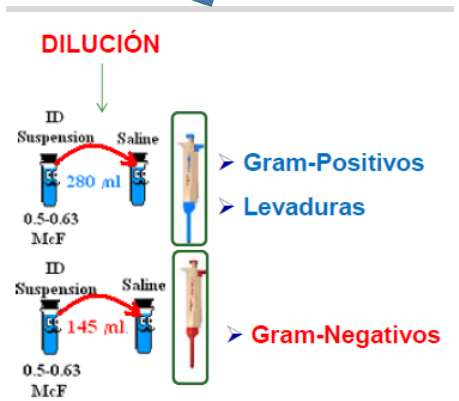
Antimicrobiano	Código	Concentraciones §	Rango de CMI ≤	Rango de CMI ≥	Indicaciones de uso de la FDA
Amikacin	AN	8, 16, 64	2	64	CSAGNB**
Amoxicillin/Clavulanic Acid	AMC	4/2, 16/8, 32/16	2/1	32/16	CSAGNB**
Ampicillin	AM	4, 8, 32	2	32	CSAGNB**
Cefalexin	CN	8, 32, 64	4	64	
Cefovecin	CFO	0.5, 1, 2	0.5	8	N/A**
Cefpodoxime	CPD	0.5, 1, 4	0.25	8	CSAGNB**
Ceftazidime	CAZ	0.25, 1, 2, 8, 32	0.12	64	N/A**
Ceftiofur	CFT	1, 2	1	8	N/A**
Chloramphenicol	C	4, 16, 32	2	64	N/A**
Ciprofloxacin	CIP	0.06, 0.12, 0.5, 1	0.06	4	N/A**
Doxycycline	DO	1, 4, 16	0.5	16	*Acinetobacter* spp., *E. aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Shigella* spp.
Enrofloxacin	ENR	0.25, 1, 4	0.12	4	N/A**
ESBL	ESB	FEP 1, CTX 0.5, CAZ 0.5, FEP/CA 1/10, CTX/CA 0.5/4, CAZ/CA 0.5/4	NEG	POS	*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*
Gentamicin	GM	4, 16, 32	1	16	CSAGNB**
Imipenem	IPM	1, 2, 6, 12	0.25	16	*Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *M. morganii*, *P. vulgaris*, *Pv. rettgeri*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *Pv. stuartii*
Marbofloxacin	MRB	1, 2	0.5	4	N/A**
Nitrofurantoin	FT	16, 32, 64	16	512	CSAGNB**
Polymyxin B	PB	0.25, 1, 4, 16	0.25	16	N/A**
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	SXT❷	1/19, 4/76, 16/304	20 (1/19)	320 (16/304)	*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *M. morganii*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *S. sonnei*, *S. flexneri*, Eco(+ETEC)**, *C. sakazakii*

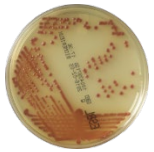
Los valores numéricos se expresan en µg/ml.
§ Concentraciones equivalentes en eficacia al método estándar.
**CSAGNB = Bacilos gram-negativos aerobios clínicamente significativos
**N/A = No se dispone de Indicaciones de uso específicos de la FDA

Procedimiento

Figura 16: Casete de VITEK® 2 Compact







Facultad de Veterinaria

Informe de examen

Cliente de bioMérieux:
Equipo Nº:
Editado por: MICRO
Aislamiento: 1B310113-1 (Aprobado)
Tipo de tarjeta: AST-GN96 Código de barras: 6861332203513233 Prueba de instrumento: 00001B1B4BCB (19046)
Técnico de preparación: MICROBIOLOGIA MICRO(MICRO)
Cantidad de organismo: **Organismo seleccionado: Escherichia coli**

Comentarios:	

Patrón McFarland:

Información de identificación			
Origen del organismo	Técnico		
Organismo seleccionado	Escherichia coli		
	Introducido: 25-sep-2020 09:17 CDT	**Por:** MICRO	

Mensajes análisis:
Se han suprimido del análisis el/los siguiente(s) antibiótico(s):
Ticarcilina/Ácido clavulánico, Florfenicol,

Tarjeta de uso veterinario exclusivamente Patrón McFarland:

Información de sensibilidad	**Tarjeta:**	AST-GN96	**Nº de lote:**	6861332203	**Fecha caduc.:** 20-jul-2021 13:00 CDT
	Estado:	Final	**Tiempo de análisis:**	14,13 horas	**Finalizado:** 23-sep-2020 03:02 CDT

Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	NEG	-	Gentamicina	<= 1	S
Ampicilina	<= 2	S	Neomicina	<= 2	S
Amoxicilina/Ácido clavulánico	<= 2	S	Flumequina	<= 1	S
Ticarcilina/Ácido clavulánico			Enrofloxacino	<= 0,12	S
Cefalexina	<= 4	S	Marbofloxacino	<= 0,5	S
Cefalotina	<= 2	S	Tetraciclina	>= 16	R
Cefoperazona	<= 4	S	Florfenicol		
Ceftiofur	<= 1	S	Polimixina B		
Cefquinoma	<= 0,5	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol	<= 20	S
Imipenem					

Conclusiones de AES:	**Última modificación:**	16-sep-2020 12:20 CDT	**Juego de parámetros:**	VET:CLSI-based+Natural Resistance
Nivel de confianza:	Coherente			

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02
Guía de interpretación de CMI: VET: CLSI-based
Guía de interpretación terapéutica: NATURAL RESISTANCE
Nombre de juego de parámetros de AES: VET:CLSI-based+Natural Resistance
Última modificación de parámetros de AES: 16-sep-2020 12:20 CDT

Página 1 de 2

Aplicaciones

- Clínica.
- Epidemiología (resistencias).
- Caracterización previa a estudios moleculares.

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 89 (2017) 202–204

Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio

Mycology

Identification and susceptibility testing of *Candida spp.* directly from yeast-positive blood cultures with Vitek 2

María Fernanda González-Lara [a], Pedro Torres-González [a], Andrea Rangel-Cordero [a], José Sifuentes-Osornio [b], Alfredo Ponce-de-León [a], Areli Martínez-Gamboa [a,*]

Journal of Microbiological Methods 194 (2022) 106434

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Microbiological Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jmicmeth

Evaluation of VITEK® 2 and MALDI-TOF/MS automated methodologies in the identification of atypical *Listeria spp.* isolated from food in different regions of Brazil

Cristhiane M.F. dos Reis [a,c], Gustavo Luis de P.A. Ramos [a,b,*], Rodrigo de Castro Lisbôa Pereira [c], Deyse Christina Vallim [c], Leonardo Emanuel de Oliveira Costa [a]

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 104 (2022) 115799

Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio

Correlation of Vitek 2 and Agar dilution for levofloxacin susceptibility testing and clinical outcomes of *Enterobacterales* bacteremia with 2019 CLSI breakpoints

Ho-Yin Huang[a,b], Ya-Ting Chang[c], Po-Liang Lu[c,d,e], Tsung-Ying Yang[e,f], Ya-Ling Wang[a], Tun-Chieh Chen[c,g], Jia-Hua Wu[h], Shang-Yi Lin[c,d,h,i,*]

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 94 (2019) 116–121

Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio

Rapid antimicrobial susceptibility testing by VITEK®2 directly from blood cultures in patients with Gram-negative rod bacteremia

CA Hogan [a,b], N Watz [b], I Budvytiene [b], N Banaei [a,b,c,*]

Pathology (October 2021) **53(6)**, pp. 763–767

MICROBIOLOGY

Evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System performance for predicting resistance mechanisms in Enterobacterales acquired from a hospital-based screening program

Eddie Chan[1,2], Marcel Leroi[1,2]

[1]*Department of Microbiology, Austin Health, Heidelberg, Vic, Australia;* [2]*Department of Infectious Diseases, Austin Health, Heidelberg, Vic, Australia*

Anaerobe 78 (2022) 102640

Contents lists available at ScienceDirect

Anaerobe

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anaerobe

Multi-year comparison of VITEK® MS and 16S rRNA gene sequencing performance for the identification of rarely encountered anaerobes causing invasive human infections in a large Canadian region: can our laboratory abandon 16S rRNA gene sequencing?

D.L. Church [a, b, c, *], T. Griener [a, c], D. Gregson [a, b, c]

TARIFAS

Tarifas que se proponen			
PRESTACIÓN 1 DEL SAI	**TARIFA INTERNA**	**TARIFA OPI**	**TARIFA EXTERNA**
De acuerdo a tarifas vigentes: http://sai.unizar.es/analisis-microbiologico/tarifas			
PRESTACIÓN 2 y 3 DEL IA2*	**TARIFA INTERNA**	**TARIFA OPI****	**TARIFA EXTERNA****
De 1 a 5 analíticas: Identificación microbiana o susceptibilidad antimicrobiana.			
Modalidad servicio completo			
Coste fijo	4,58	10,53	12,64
Coste unitario por analítica	9,63	11,07	11,07
Modalidad autoservicio			
Coste fijo	1,00	x	x
Coste unitario por analítica	1,01	x	x
De 6 a 10 analíticas: Identificación microbiana o susceptibilidad antimicrobiana.			
Modalidad servicio completo			
Coste fijo	6,87	15,80	18,96
Coste unitario por analítica	9,63	11,07	11,07
Modalidad autoservicio			
Coste fijo	2,29	x	x
Coste unitario por analítica	1,00	x	x
De 11 a 20 analíticas: Identificación microbiana o susceptibilidad antimicrobiana.			
Modalidad servicio completo			
Coste fijo	13,74	31,60	37,92
Coste unitario por analítica	9,63	11,07	11,07
Modalidad autoservicio			
Coste fijo	4,58	x	x
Coste unitario por analítica	1,00	x	x

Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Servicio de Espectrometría de Masas

Ricardo López

Vicente Ferreira

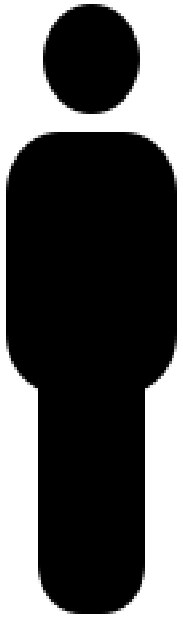
Laboratorio de Análisis de Aroma y Enología

En vías de regularización

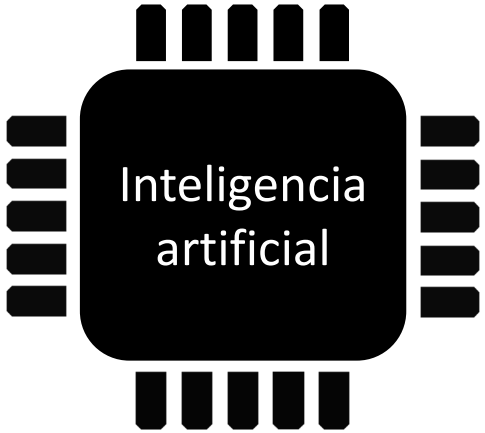
Plataforma Analítico-Foodómica

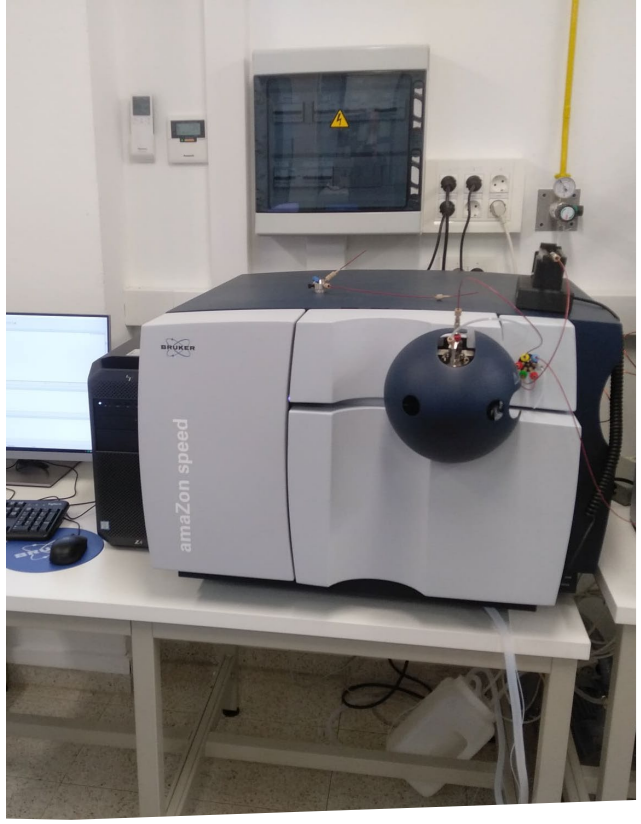
INSTRUMENTOS

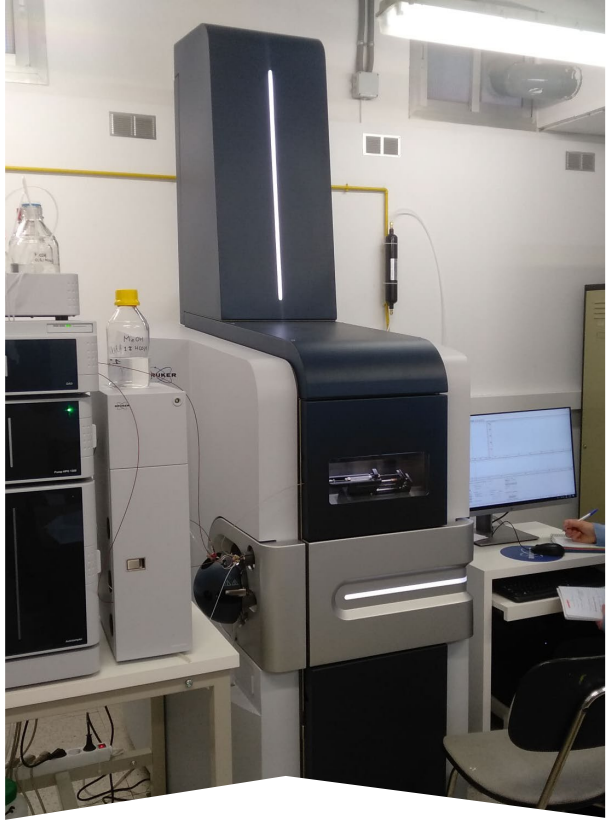
PERSONAL



SOFTWARE







Localización

- Sotano del edificio A de la Facultad de Ciencias
- Instalaciones del CEQMA (ICMA+ISQCH)

Equipos adquiridos

1. Equipo LC-MS para análisis cuantitativo
2. Equipo LC-MS de alta resolución con movilidad iónica para metabolómica
3. Equipo LC-MS tipo trampa iónica para elucidación estructural (amaZon Speed)

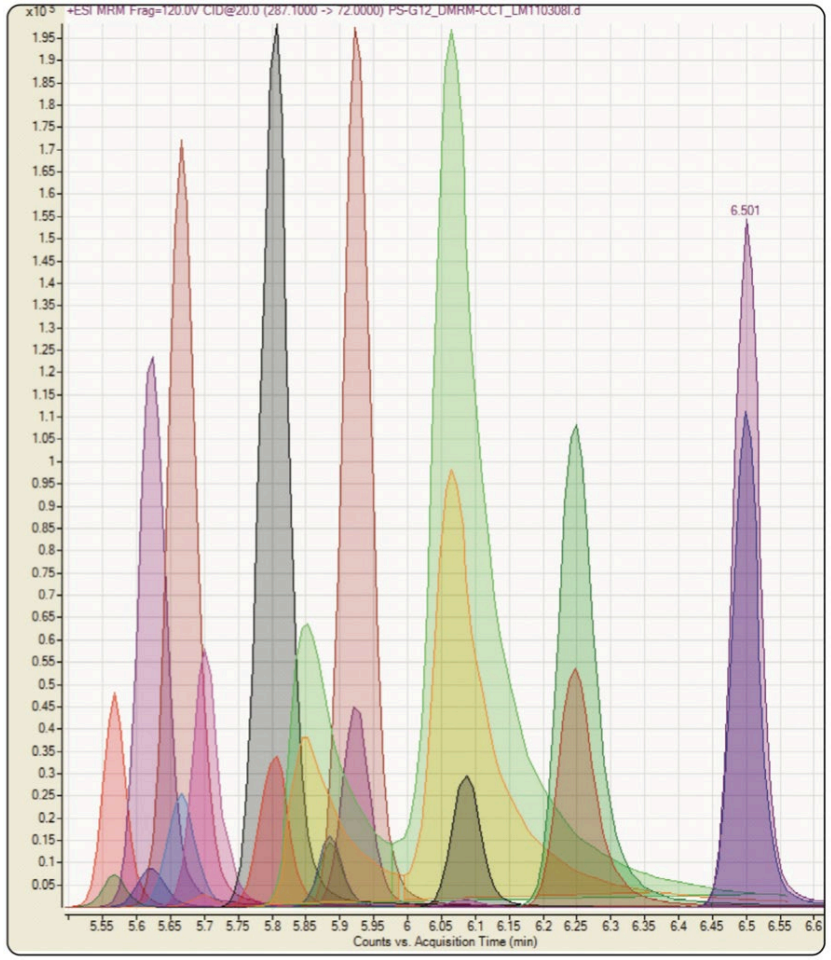
1

Análisis cuantitativo dirigido: Triple Cuadrupolo EVOQ Elite Bruker

Instituto Universitario de Investigación Mixto
Agroalimentario de Aragón
Universidad Zaragoza

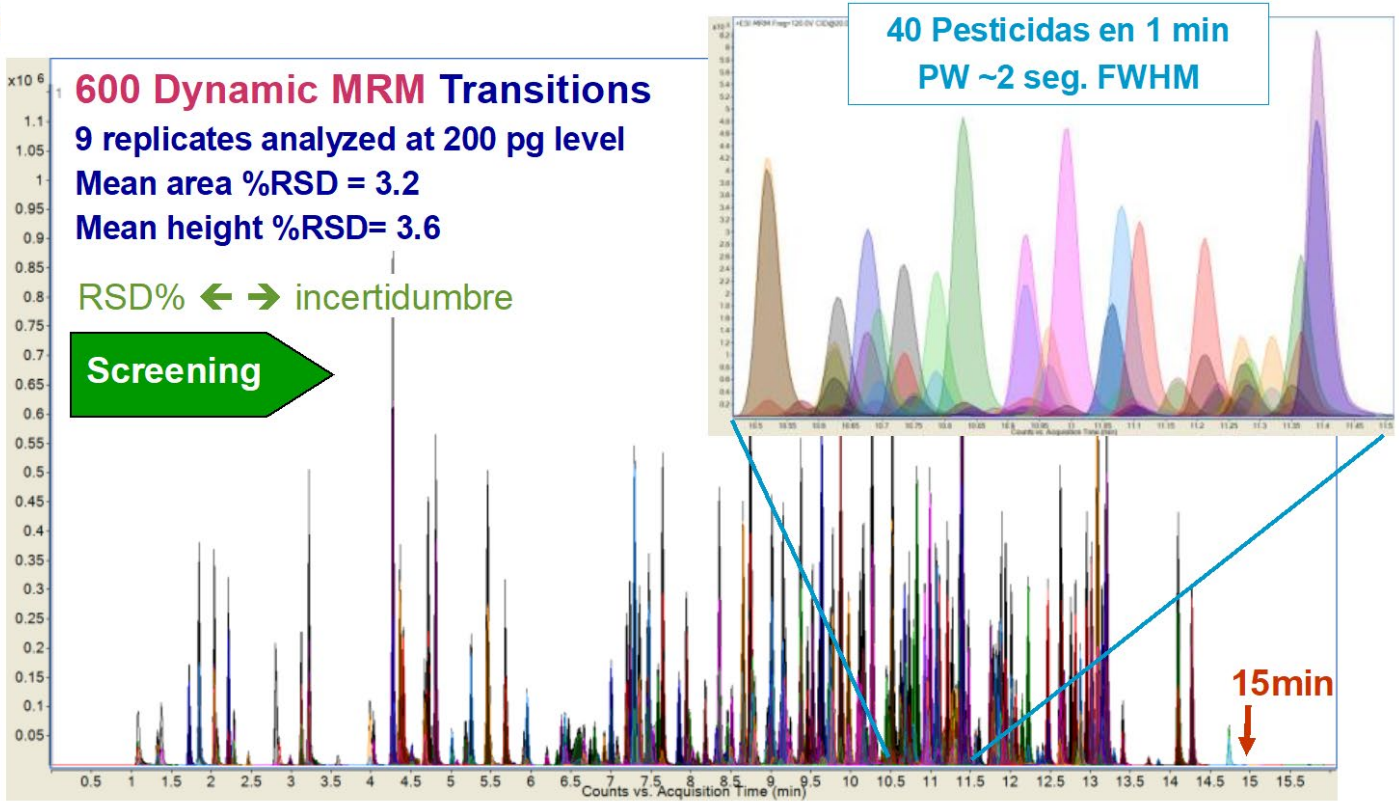
Cuantificación de compuestos diana conocidos en bajas concentraciones

- Pesticidas
- Esteroides
- Antioxidantes
- Agentes antimicrobianos
- Precursores
- Vitaminas
- Oligosacáridos
- Péptidos, proteínas
- Fito y micotoxinas
- Dioxinas
- Farmacocinéticas

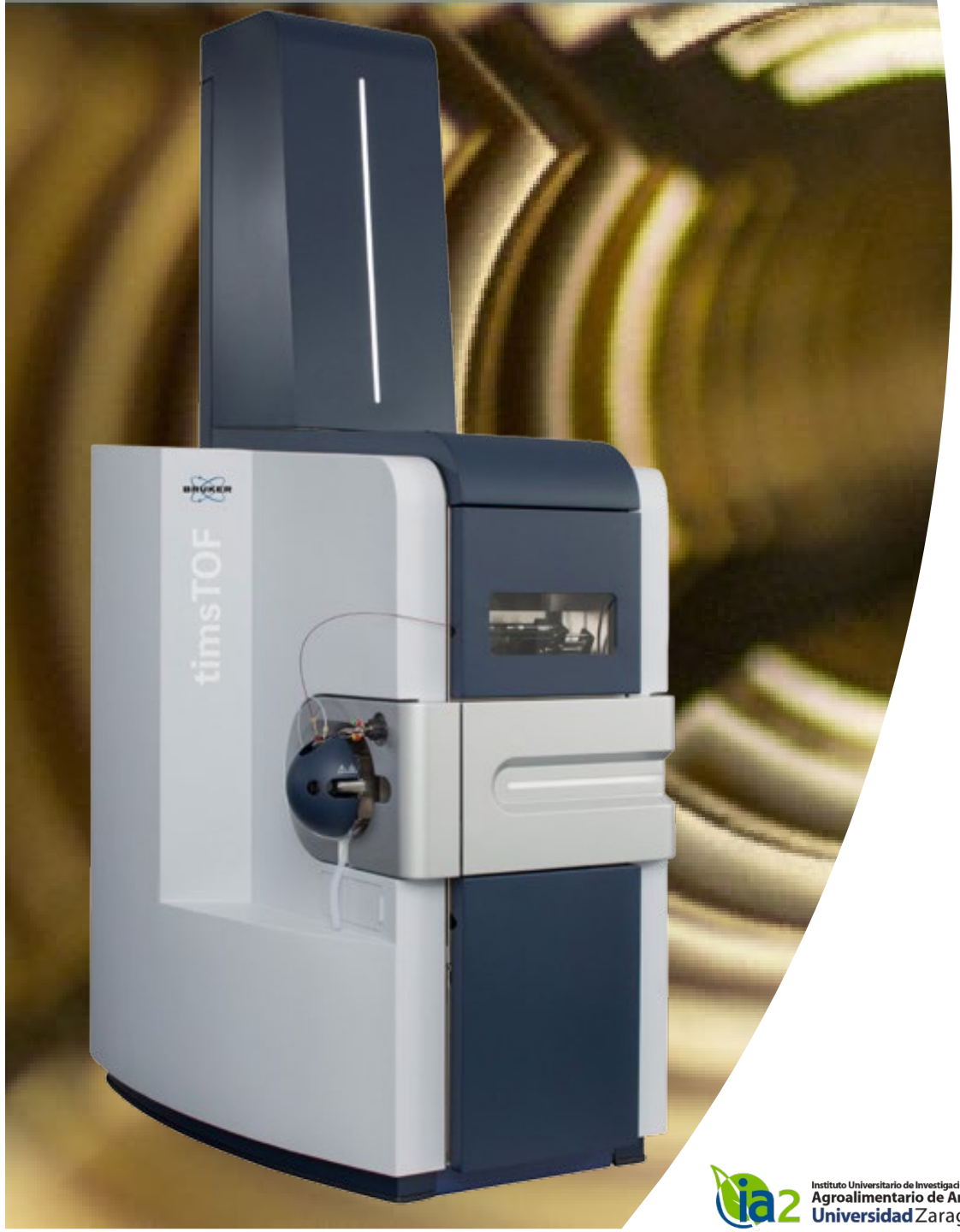


Técnica UPLC-MS cuantitativa

- Métodos multiresiduo con >100 analitos detectados simultáneamente



2



Análisis Metabolómico

MS de alta resolución con movilidad iónica tipo QTOF (timsTOF Bruker)

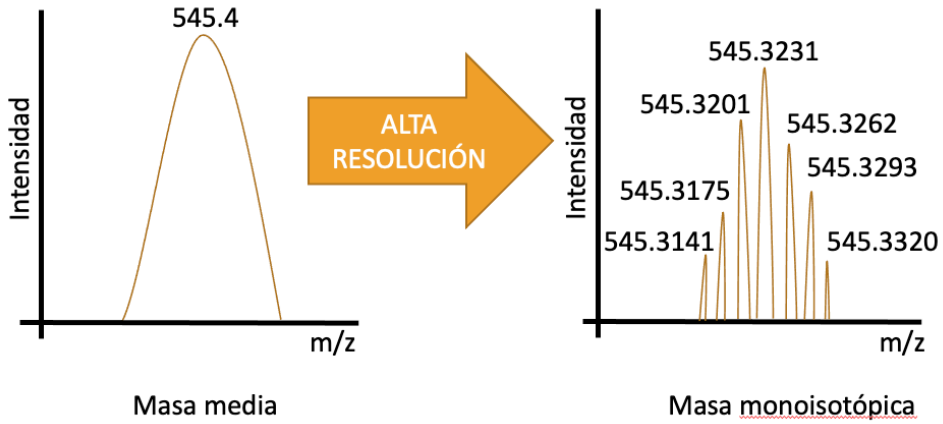
Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón Universidad Zaragoza

Técnica UPLC-MS Alta Resolución

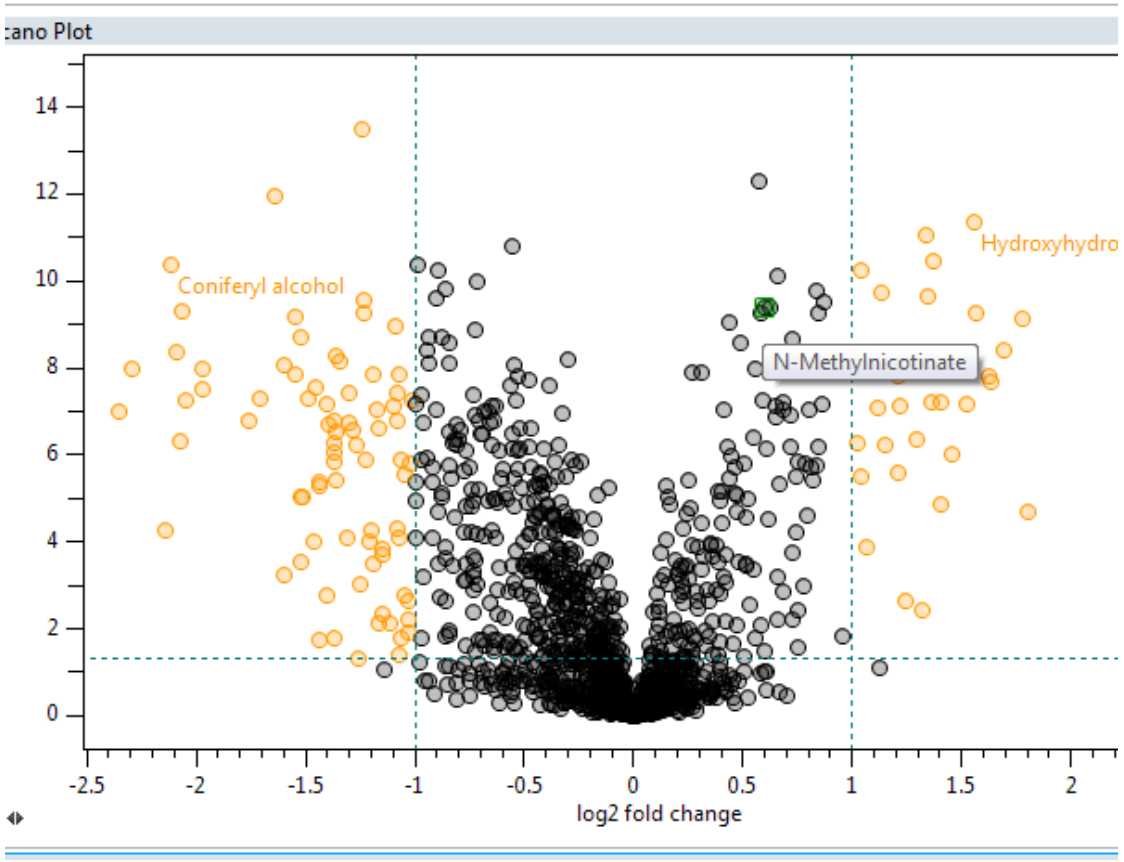
UPLC: Permite separaciones eficientes y rápidas de compuestos orgánicos

Movilidad iónica: permite separar isómeros

QTOF: identificación mediante masa exacta y MS en tandem



Aplicaciones QTOF Alta Resolución

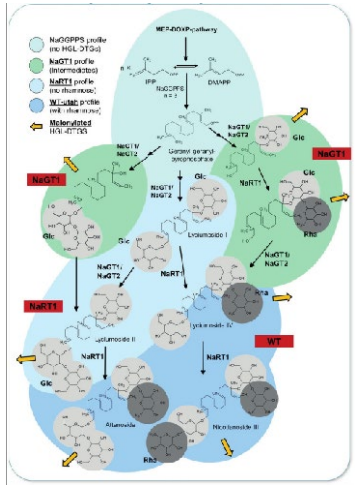


- Screening de un número muy elevado de compuestos sin disponibilidad de patrones
- Seguridad alimentaria y medioambiental
- Análisis ”ómico” (proteómica, metabolómica, foodómica)

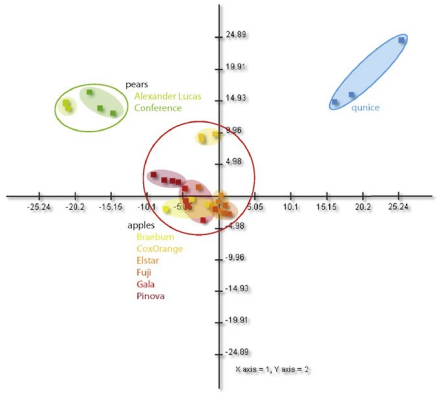
Metabolómica

Análisis comparativo de muestras desconocidas

¿Qué diferencias en su composición química se correlacionan con las distintas propiedades de los grupos comparados?



Descubrimiento de (Bio)Marcadores
Clasificación de muestras
Comprobación origen
Detección adulteraciones
Interpretación de rutas metabólicas



Instituto Universitario de Investigación Mixto
Agroalimentario de Aragón
Universidad Zaragoza

SEMINARIO

Otros servicios del IA2 y futuras actividades de apoyo a la investigación

- Extracción de ácidos nucleicos mediante partículas magnéticas
- PCR digital: Detección y cuantificación absoluta de ácidos nucleicos
- Electroforesis en Gel de Campos Pulsados (PFGE)
- Identificación microbiana y de evaluación de la susceptibilidad antibióticos

Mª Jesús Serrano Andrés

22 de noviembre de 2022