



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Carta científica

Detección directa de genes *blaKPC*, *blaNDM* y *blaOXA-48* a partir de hemocultivos positivos



Rapid detection of *blaKPC*, *blaNDM* and *blaOXA-48* genes in positive blood culture broths

Las bacteriemias están asociadas a una elevada morbimortalidad, por lo que el diagnóstico preciso y el inicio temprano de una terapia antibiótica eficaz son esenciales para su tratamiento¹.

Uno de los principales mecanismos de resistencia en bacilos gramnegativos es la producción de carbapenemasas, por ello, es necesario contar con métodos que permitan la detección rápida de las mismas directamente a partir de muestras clínicas.

El ensayo BD MAXTM Check-Points CPO es una PCR en tiempo real cualitativa, automatizada y diseñada para la detección de los genes de carbapenemasas *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM/blaIMP* y *blaOXA-48* a partir de hisopados de pacientes con sospecha de colonización rectal.

El objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño del ensayo BD MAXTM Check-Points CPO directamente en frascos de hemocultivos positivos con bacilos gramnegativos. Se estudiaron pacientes ingresados con sospecha de bacteriemia y con factores de riesgo de infección por bacilos gramnegativos portadores de carbapenemasas. Los factores de riesgo considerados asociados fueron: antecedentes de ingreso en los 30 días previos; pacientes derivados de otras instituciones de salud; antecedentes de colonización o infección previa por bacilos gramnegativos resistentes a carbapenemas.

Aquellos frascos positivos donde en la tinción de Gram se evidenció la presencia de bacilos gramnegativos se realizó en paralelo el cultivo convencional y el ensayo BD MAXTM Check-Points CPO. Las placas de cultivo convencional se incubaron durante 18 h a 37 °C. La identificación y la sensibilidad antibiótica de los aislamientos se estudió mediante sistema automatizado PhoenixTM (Becton Dickinson). Los ensayos y la interpretación de los resultados se rea-

lizaron de acuerdo a las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)². La búsqueda fenotípica de carbapenemasas se realizó mediante sinergia con discos de ácido borónico y EDTA (Britania), y la metodología CARB BLUE Kit[®] (ROSCO)³.

Para realizar el ensayo BD MAXTM Check-Points CPO, se tomaron 50 µl del frasco, se realizó una dilución 1/50 de la cual se tomaron 10 µl que se colocaron en el *buffer* muestra del kit. Posteriormente se continuó el ensayo siguiendo las indicaciones del fabricante.

Se estudiaron un total de 59 frascos positivos para bacilos gramnegativos, de los cuales, se recuperaron 61 aislados por cultivo convencional.

Un total de 33 aislados fueron no-sensibles a carbapenemas mediante cultivo. En 21 se evidenció la presencia de carbapenemasas mediante la inhibición con ácido borónico (19), EDTA (2) y/o método CARB BLUE Kit[®].

Los resultados obtenidos mediante BD MAXTM Check-Points CPO fueron: 32 negativos y 29 positivos (17 *blaKPC*, 8 *blaOXA-48*, 2 *blaNDM* y 2 resultaron positivas para *blaKPC* y *blaOXA-48*, simultáneamente) (tabla 1). Solo una cepa fue positiva para OXA-48, sin evidenciarse resistencia a carbapenemas.

Los resultados obtenidos permitieron demostrar que BD MAXTM Check-Points CPO detectó el 100% de las cepas productoras de carbapenemasas tipo *blaKPC*, *blaNDM* y *blaOXA-48*. El único caso discordante entre el cultivo y BD MAXTM Check-Points CPO fue una cepa de *Providencia stuartii*, en la cual se detectó *blaOXA-48* sin evidenciarse resistencia a carbapenemas, lo cual puede deberse a la falta de expresión de la enzima en dicho aislado.

Existen métodos inmunocromatográficos que permiten detectar carbapenemasas a partir de colonias aisladas donde la sensibilidad y la especificidad son del 100%⁴. En nuestro medio no hay comunicaciones del uso de dicha metodología sobre muestra directa y los costes de estas determinaciones son similares a los de los métodos moleculares.

Tabla 1
Resultados obtenidos con el ensayo BD MAXTM Check-Points CPO directo de hemocultivos positivos

Germen	N.º	Cultivo		BD MAX TM			
		No sensibilidad a carbapenemas	Sensibilidad a carbapenemas	<i>blaKPC</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaNDM</i>	<i>blaKPC blaOXA-48</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31	25	6	17	4	2	2
<i>Escherichia coli</i>	9	—	9	—	—	—	—
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	4	—	—	—	—	—
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	2	1	—	2	—	—
<i>Proteus mirabilis</i>	3	—	3	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	—	3	—	—	—	—
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	—	2	—	—	—	—
<i>Providencia stuartii</i>	2	—	2	—	1	—	—
<i>Serratia marcescens</i>	2	1	1	—	1	—	—
<i>Aeromonas veronii</i>	1	1	—	—	—	—	—
<i>Citrobacter koseri</i>	1	—	1	—	—	—	—
Total	61	33	28	17	8	2	2

Hay evidencia de la utilización de BD MAX™ sobre muestra directa de hemocultivo para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina^{5–7}. En dichos estudios se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad entre el 98–100%.

En nuestro conocimiento, no hay comunicaciones en la literatura de la evaluación del ensayo BD MAX™ Check-Points CPO a partir de muestras directas. En nuestro trabajo evidenciamos que el ensayo detectó el 100% de los bacilos gramnegativos productores de carbapenemasa tipo *blaKPC*, *blaNDM* y *blaOXA-48* en comparación con los métodos de cultivo tradicional. Consideramos una limitación del estudio que en el período evaluado no se han detectado la presencia de *blaVIM/blaIMP* como consecuencia de la baja frecuencia en nuestro medio.

Este estudio nos permitió evaluar la eficiencia de la metodología BD MAX™ Check-Points CPO en la detección de *blaKPC*, *blaNDM* y *blaOXA-48* en muestras directas de frascos de hemocultivos en un tiempo estimado de 3 h.

Agradecimientos

Becton Dickinson Argentina proporcionó los ensayos para realizar el estudio.

Bibliografía

1. Bassetti M, Righi E, Carnelutti A. Bloodstream infections in the Intensive Care Unit. *Virulence*. 2016;7:267–79.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th edition Wayne, PA; 2020. M100.

3. Pasteran F, Rapoport M, Lucero C, Corso A. Comparison of the in-house Blue-Carba Test (BCT) with the Rapid CARB Blue Kit for the Detection of Carbapenemase-Producing Gram Negative Bacilli. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Abstract. 2015;385.
4. Meunier D, Vickers A, Pike R, Hill RL, Woodford N, Hopkins KL. Evaluation of the K-SeT R.E.S.I.S.T. immunochromatographic assay for the rapid detection of KPC and OXA-48-like carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:2357–9.
5. Dalpke AH, Hofko M, Hamilton F, Mackenzie L, Zimmermann S, Templeton K. Evaluation of the BD Max™ Staph SR Assay for rapid identification of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in positive blood culture broths. *J Clin Microbiol*. 2015;53:3630–2.
6. Ellem JA, Olma T, O'Sullivan MV. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *S. aureus* directly from positive blood cultures by use of the BD Max™ Staph SR assay. *J Clin Microbiol*. 2015;53:3900–4.
7. Lee J, Park YJ, Park DJ, Park KG, Lee HK. Evaluation of BD MAX Staph SR assay for differentiating between *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci and determining methicillin resistance directly from positive blood cultures. *Ann Lab Med*. 2017;37:39–44.

Bárbara Wisner*, Mauro Herrero, Gisela Serruto y Mariela S. Zarate

Laboratorio de Bacteriología, Sanatorio Güemes, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: barbara.wisner@hotmail.com (B. Wisner).

Recibido el 6 de marzo de 2021

Aceptado el 5 de junio de 2021

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.06.008>

0213-005X/ © 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Infección diseminada por *Mycobacterium avium* complex: confirmación microbiológica mediante inducción «percutánea» de esputo tras instilación intracavitaria de suero salino



Disseminated Mycobacterium avium complex infection: microbiological confirmation by «percutaneous» sputum induction following the intracavitary instillation of normal saline

La incidencia de las enfermedades provocadas por micobacterias no tuberculosas (MNT) y su morbimortalidad están aumentando en las últimas décadas¹. Existen varios factores predisponentes para el desarrollo de infecciones por MNT, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, haber padecido una tuberculosis, las bronquiectasias, las inmunodeficiencias, el cáncer o la diabetes mellitus, aunque en una proporción significativa de pacientes no se identifican factores de riesgo^{2,3}. Aunque el pulmón es el órgano que se afecta con mayor frecuencia, las MNT también pueden infectar huesos, ganglios linfáticos, articulaciones o la piel⁴. La mayor parte de las infecciones pulmonares por MNT se diagnostican mediante el examen y cultivo del esputo⁵. Si la MNT no puede aislarse en las secreciones expectoradas, se suele progresar a la realización de un lavado broncoalveolar (LBA) o, incluso, de una biopsia pulmonar^{1,5}. Presentamos el caso de un paciente inmunocompetente con una infección multifocal (vertebral y pulmonar) por *Mycobacterium avium* complex (MAC) en el que se logró la primera confirmación microbiológica tras la instilación percutánea (con control radiológico) de una lesión cavitada pulmonar y la provocación de un «esputo inducido».

Se trata de un varón de 75 años con antecedentes de hipertensión arterial, dislipemia y fibrilación auricular (pero sin ninguno de los factores predisponentes reseñados en el párrafo anterior) que consultó por astenia, tos seca y dolor lumbar progresivo de cinco meses de evolución, en el que una resonancia magnética (RM) y una tomografía computarizada (TC) de columna lumbar demostraron signos de una espondilodiscitis de los espacios intervertebrales L4-L5 y L5-S1 (figs. 1 A y B). En una radiografía de tórax se observaron opacidades de aspecto infeccioso en pulmón derecho, destacando algunas lesiones cavitadas en lóbulo inferior derecho (LID). Una TC de tórax confirmó la presencia de nódulos centrolobulillares y signos de bronquiolitis infecciosa (fig. 1C), así como varias lesiones cavitadas en LID, sugiriendo una infección activa por *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) (fig. 1D). Un LBA y varios esputos inducidos (tras la inhalación de soluciones de suero salino hipertónico) no demostraron la presencia de bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR) mediante tinción de auramina ni de material genético de *M. tuberculosis* mediante amplificación de ácidos nucleicos (Xpert® MTB/RIF Ultra, Cepheid). Se decidió realizar una biopsia percutánea con control radiológico del disco intervertebral L5-S1 (fig. 1E), con resultados igualmente negativos. Ante la ausencia de confirmación microbiológica, y en espera del resultado de los cultivos específicos para micobacterias (VersaTREK®, Thermo Fisher Scientific), se decidió realizar una punción-aspiración percutánea (con control radiológico mediante TC) de una de las lesiones cavitadas en LID (fig. 1F) tras la instilación de unos 10 mL de suero salino en una de las lesiones cavitadas, pero apenas se pudo aspirar 1 mL de líquido hemorrágico. Al finalizar el procedimiento, el paciente expectoró un esputo abundante (15 mL) y espeso sobre un paño estéril (utilizado para colocar el material empleado durante el pro-