

## Ethical approval

The current study was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Clínico Universitario INCLIVA (September, 2019).

## Conflict of interest

The authors have no conflict of interest.

## Acknowledgments

We are grateful to residents and staff at the Microbiology Service of Hospital Clínico Universitario. Ignacio Torres holds a contract (Río Hortega Contract; CM20/00090) funded by the Carlos III Health Institute (co-financed by the European Regional Development Fund, ERDF/FEDER).

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.eimc.2023.01.006](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2023.01.006).

## Bibliografía

1. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest*. 2020;118:146–55.
2. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:760–6.
3. Schuts EC, Hulscher MEJL, Mouton JW, Verduin CM, Cohen-Stuart JWT, Overdiek HWPM, et al. Current evidence on hospital antimicrobial stewardship objectives: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016;16:847–56.

4. Shorr AF, Micek ST, Welch EC, Doherty JA, Reichley RM, Kollef MH. Inappropriate antibiotic therapy in Gram-negative sepsis increases hospital length of stay. *Crit Care Med*. 2011;39:46–51.
5. Oviaño M, Bou G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the rapid detection of antimicrobial resistance mechanisms and beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2018;32, e00037–18.
6. Torres I, Albert E, Giménez E, Olea B, Valdivia A, Pascual T, et al. Performance of a MALDI-TOF mass spectrometry-based method for rapid detection of third-generation oxymino-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. from blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;40:1925–32.
7. [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_10.0/Breakpoint\\_Tables.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0/Breakpoint_Tables.pdf).
8. Torres Fink I, Tormo Palop N, Borrás Salvador R, Buesa Gómez J, Gimeno Cardona C, Navarro Ortega D. Evaluation of the DNA microarray “AMR Direct Flow Chip Kit” for detection of antimicrobial resistance genes from Gram-positive and Gram-negative bacterial isolated colonies. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2019;37:454–7.
9. Sánchez-Carrillo C, Pescador P, Ricote R, Fuentes J, Losada C, Candela A, et al. Evaluation of the Alfred AST® system for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38:1665–70.

David Sánchez<sup>a</sup>, Javier Colomina<sup>a</sup>, David Navarro<sup>a,b,\*</sup>, Ignacio Torres<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Microbiology Service, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación INCLIVA, Valencia, Spain

<sup>b</sup> Department of Microbiology, School of Medicine, University of Valencia, Spain

\* Corresponding author.

E-mail address: [david.navarro@uv.es](mailto:david.navarro@uv.es) (D. Navarro).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2023.01.006>

0213-005X/ © 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina portador del gen *mecC*



### Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia carrying the *mecC* gene

En *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) resistente a meticilina (SARM) la resistencia a betalactámicos se debe a la alteración de las proteínas de unión a la penicilina (PBP). Este mecanismo de resistencia es consecuencia de la adquisición del gen *mecA*, que codifica una PBP2a de baja afinidad a betalactámicos<sup>1,2</sup>. En 2011 se describió un nuevo gen de resistencia, el gen *mecC*, que codifica la PBP2c. Su presencia se ha extendido<sup>3</sup> y por ello su identificación es esencial para instaurar un tratamiento antibiótico adecuado.

Presentamos un caso de paciente con bacteriemia por SARM *mecC*.

Se trata de un varón de 70 años pluripatológico, que acude a urgencias por mal control del dolor tras una caída. Es diagnosticado de fracturas dorsales, presenta hiperbilirrubinemia con ictericia, y se decide su ingreso. Empeora y se extraen hemocultivos y urocultivo, se inicia tratamiento empírico con piperacilina-tazobactam y con sospecha de shock séptico es ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

En la tinción de Gram del hemocultivo, se observan cocos grampositivos en racimos que fueron identificados mediante PCR (Xpert® MRSA/SA BC, Cepheid) como *S. aureus* sensible a meticilina (SASM), por lo que se añadió cloxacilina. Tras la realización de cultivo y antibiograma siguiendo los puntos de corte de EUCAST<sup>4</sup>,

se observó resistencia a betalactámicos. Se realizó inmunocromatografía (CLEARVIEW™ PBP2a SA culture colony test, Abbott) con resultado negativo para la PBP2a. Con la sospecha de infección por SARM *mecC*, se realizó una segunda PCR comercial (Filmarray® Blood Culture Identification Panel, Biomerieux) con resultado positivo para las dianas *mecA/C* y MREJ. Además, mediante microdilución (MicroScan Pos Combo Panel Type 33, Beckman Coulter) los valores de CMI para oxacilina y cefoxitina fueron 2 mg/l y > 4 mg/l, respectivamente y el resto de las familias de antibióticos se interpretaron como sensibles. La presencia del gen *mecC* se confirmó mediante «PCR casera» con dianas moleculares específicas y secuenciación. Se modificó la antibioterapia a daptomicina y levofloxacino pero el paciente falleció tras 14 días de ingreso.

Recientes publicaciones sugieren que la aparición de SARM *mecC* es previa al uso de antibióticos<sup>5</sup>, y que la transmisión a humanos se puede producir por contacto con animales<sup>3,6,7</sup>. Además, la colonización, la edad avanzada y tener alguna enfermedad de base también se han asociado con infección<sup>8</sup>. En nuestro caso, el paciente afirmó su contacto con ganado y en la muestra nasal para estudio de bacterias resistentes recogida en su ingreso en UCI, también se aisló SARM *mecC* por lo que el paciente estaba colonizado y desarrolló la infección.

En el diagnóstico microbiológico, el descubrimiento del gen *mecC* con una homología de nucleótidos del 70% con el gen *mecA*, y la PBP2c que codifica con una similitud en la secuencia de aminoácidos del 62% con la PBP2a hace que las pruebas dirigidas a la detección del gen *mecA* y la PBP2a identifiquen erróneamente

un aislado de SARM *mecC* como SASM<sup>2,9</sup>. Por ello, realizar antibiograma y utilizar técnicas específicas es imprescindible<sup>2</sup>. El SARM *mecC* representa un porcentaje menor al 1% de los SARM y la mayoría pertenecen al complejo clonal (CC) CC130. En España, dentro de este CC, el secuenciotipo y tipo de *spa* más frecuentes son ST1945 y t843, respectivamente<sup>5,8</sup>. En nuestro paciente, la PCR inicial y la técnica inmunocromatográfica que detecta la presencia de PBP2a identificaron al aislado como SASM. Pero tras la realización del antibiograma, la resistencia se confirmó mediante PCR específica y secuenciación, demostrándose también la presencia del gen *mecC* integrado en el cassette cromosómico SCC*mec* XI. Además, mediante *multilocus sequence typing* (MLST) se catalogó dentro del CC130, y mediante el tipado molecular por PCR y posterior secuenciación del *spa* se detectó un nuevo tipo de *spa* registrado como t20888, dentro del ST1945.

En conclusión, este es un caso de infección invasiva por SARM *mecC* con un nuevo tipo de *spa* y con fatal desenlace en el que el paciente reunía los factores de riesgo para padecer infección por este microorganismo: contacto estrecho con ganado, enfermedad subyacente, edad avanzada y colonización nasal. En los laboratorios de Microbiología es importante la realización de antibiograma manual junto a la utilización de técnicas moleculares rápidas, ya que se pueden identificar mecanismos no incluidos en las dianas moleculares de las PCR comerciales. Esto es esencial para elección de un tratamiento antibiótico adecuado.

### Agradecimientos

Agradecemos la participación de Carmen Torres y su grupo de trabajo de La Universidad de La Rioja en la caracterización de la cepa de *S. aureus* portadora del gen *mecC*.

### Bibliografía

- Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. Clin Microbiol Rev. 2018;31:e00020–18, <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00020-18>.

- García-Álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011;11:595–603, [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70126-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70126-8).
- García-Garrote F, Cercenado E, Marín M, Bal M, Trincado P, Corredoira J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. J Antimicrob Chemother. 2014;69:45–50, <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkt327>.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints-bacteria version 11.0.2022. [consultado 2 Nov 2022]. Disponible en: [www.eucast.org](http://www.eucast.org).
- Larsen J, Raisen CL, Ba X, Sadgrove NJ, Padilla-Gonzalez GF, Simmonds MSJ, et al. Emergence of methicillin resistance predates the clinical use of antibiotics. Nature. 2022;602:135–41, <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-04265-w>.
- Harrison EM, Paterson GK, Holden MTG, Larsen J, Stegger M, Larson AR, et al. Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel *mecA* homologue *mecC*. EMBO Mol Med. 2013;5:504–15, <http://dx.doi.org/10.1002/emmm.201202413>.
- Angen O, Stegger M, Larsen J, Lilje B, Kaya H, Pedersen KS, et al. Report of *mecC*-carrying MRSA in domestic swine. J Antimicrob Chemother. 2017;72:60–3, <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkw389>.
- Lozano C, Fernández-Fernández R, Ruiz-Ripa L, Gómez P, Zarazaga M, Torres C. Human *mecC*-carrying MRSA: clinical implications and risk factors. Microorganisms. 2020;8:1615, <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8101615>.
- Ba X, Harrison EM, Lovering AL, Gleadall N, Zadiks R, Parkhill J, et al. Old drug to treat resistant bugs: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with *mecC* are susceptible to a combination of penicillin and clavulanic acid. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59:7396–404, <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01469-15>.

Irati Arregui García<sup>a,\*</sup>, M. Eugenia Portillo<sup>a,b</sup>,  
Luis Torroba Álvarez<sup>a,b</sup> y Carmen Ezpeleta Baquedano<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario de Navarra, Pamplona, España

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdisNA), Pamplona, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [iratiarregui@gmail.com](mailto:iratiarregui@gmail.com) (I. Arregui García).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2023.01.008>

0213-005X/ © 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

### High frequency of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 in negative pleural fluid cultures from paediatric samples obtained in the Madrid region from 2018 to 2022, detected by direct identification using PCR-reverse-hybridization strip-based assay



### Elvada frecuencia del serotipo 3 de *Streptococcus pneumoniae* detectado mediante una técnica de PCR e hibridación reversa, en muestras pediátricas de líquido pleural con cultivo negativo, obtenidas en la Comunidad de Madrid entre 2018 y 2022

The first pneumococcal conjugate vaccine introduced in 2006 in the paediatric immunization calendar of the Madrid region was the 7-valent (PCV7), which was substituted in 2010 by the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13). In 2012, PCV13 was withdrawn from the Madrid paediatric public immunization programme, being prescribed privately. In 2015, the PCV13 was re-introduced at the Spanish national paediatric public vaccine scheme.<sup>1</sup> The Quellung reaction is the gold standard for pneumococcal serotyping. This method requires strains isolated in culture. However, in samples as parapneumonic effusion (PPE) and pleural

empyema (PE), commonly grouped as PPE/PE,<sup>2</sup> the bacterial growing is fastidious and the availability of colonies may be difficult. The objective of this work was to identify the not growing *Streptococcus pneumoniae* serotypes (SPNGST) causing pleural infection in children, in which the standard microbiological culture shows negative results.

Thirty-five PFS from paediatric patients (aged six months to 8 years; mean 3.4 years, standard deviation 2.1) with negative culture results, obtained between September 2018 and December 2022, were processed for the detection of the  $\alpha$ -fucosidase gene using a real time PCR method (*Streptococcus pneumoniae* alpha-fucosidase gene Genesig<sup>®</sup> Advanced Kit; Primerdesign Ltd, United Kingdom). Positive  $\alpha$ -fucosidase samples were subsequently tested by a PCR reverse-hybridization strip-based assay (S. PneumoStrip test; Operon S.A., Zaragoza, Spain) that allows serotype identification.

The  $\alpha$ -fucosidase real-time PCR method was positive in 30 of the 35 samples studied (85.7%). The PCR reverse-hybridization assay showed positive results for the *lytA*, *cpsA* and *ply* genes in 28 of the 30 samples (93.3%). The serotypes detected by this technique in these 28 samples were twenty-one serotype 3 (75%), two