

DetECCIÓN DIRECTA DE FRASCO DE HEMOCULTIVO POSITIVO MEDIANTE LAMP-PCR DE BACTERIEMIAS PRODUCIDAS POR BACILOS GRAM NEGATIVOS MULTIRRESISTENTES. P0471

Mónica Ballester-Téllez, Pilar Arjona, Emma Padilla, Elena Jiménez, Ana Blanco, Rosa Rubio, Pepa Perez

CATLAB, Centre d'anàlitiqes de Terrassa. email: mballester@catlab.cat

INTRODUCCIÓN/OBJETIVOS

La actual diseminación de microorganismos multirresistentes hace que la detección rápida de mecanismos de resistencia sea de gran importancia para establecer precozmente un tratamiento adecuado ya que, en el caso de la bacteriemia, mejora el pronóstico del paciente.

Existen multitud de técnicas que permiten detectar mecanismos de resistencia, pero muchas necesitan más de 1 hora y no se pueden realizar de muestra directa.

El objetivo de este estudio es evaluar la técnica LAMP-PCR (Genie) para la detección de mecanismos de resistencia (CTX-M-1/9 grup, VIM, NDM, KPC, OXA-48) de hemocultivos positivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se dividió el estudio en dos brazos

1- **Retrospectivo:** la que se realizaba la técnica desde hemocultivos positivos con resultado conocido

2- **Simulación:** se realizó una simulación de hemocultivo positivo con diferentes concentraciones bacterianas (10^3 y 10^5 UFC/ml) utilizando cepas con mecanismos de resistencia conocidos.

Para las simulaciones, se utilizaron 10 cepas tanto cepas clínicas como procedentes de colección multirresistentes (MR) productoras de NDM, VIM, OXA-48, KPC y BLEE.

Se comprobó el inóculo presente en cada uno de los hemocultivos así como los mecanismos de resistencia tanto fenotípica como genotípicamente.



RESULTADOS

Estudio retrospectivo:

Se analizaron un total de **12 hemocultivos positivos**: 2 *K. pneumoniae* BLEE, 7 *E.coli* BLEE, 1 *E. cloacae*, 1 *E. aerogenes* y 1 *M. morgani* fenotipo salvaje. Se detectaron 7 cepas productoras de BLEE, todas pertenecientes al grupo CTX-M-1. Los dos falsos negativos fueron *K. pneumoniae* SHV, ya que este tipo de betalactamasa no se detecta con esta técnica. El inóculo medio fue de 4.7×10^8 UFC/ml.

Simulaciones:

10 simulaciones con cepas MR con un inóculo de 10^3 UFC/ml.

Sólo se detectaron 3 mecanismos de resistencia: CTX-M-1, CTX-M-9 y NDM

En otras 3 se observa curva de amplificación con poca intensidad pero es interpretada por el programa como negativa (OXA-48, CTX-M-1, OXA-48+CTX-M-1).

En el resto no se observa curva de amplificación.

Simulación Hemocultivo (10^5 UFC/ML)

Microorganismo	N	Fenotipo	GENIE
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	BLEE+AmpC	CTX-M-1 Grup
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	OXA-48	OXA-48
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	CTX-M-15+OXA-48	CTX-M-1 Grup + OXA 48
<i>K.pneumoniae</i>	ATCCBAA2146	CTX-M-15+NDM	Neg (NDM +CTX-1 Grup curva de poca intensidad)
<i>K.pneumoniae</i>	ATCCBAA1705	KPC	Neg (KPC con curva de poca intensidad)
<i>P.aeruginosa</i>	CC Seimc	VIM	VIM
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	OXA 48+NDM+CTX-M-15	OXA 48+NDM+CTX-M-1
<i>E.coli</i>	Cepa clínica	VIM	VIM
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	KPC	Neg (KPC con curva de poca intensidad)

Tabla 2: Resultados simulación hemocultivo positivo con un inóculo de 10^5 UFC/ml

Simulación Hemocultivo (10^3 UFC/ML)

Microorganismo	Origen	Fenotipo	GENIE
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	BLEE+AmpC	CTX-M-1 Grup
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	OXA-48	Neg (OXA 48 curva de poca intensidad)
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	CTX-M-15+OXA-48	Neg (CTX-M-1 Grup curva de poca intensidad)
<i>K.pneumoniae</i>	ATCCBAA2146	NDM	NDM
<i>K.pneumoniae</i>	ATCCBAA1705	KPC	Neg
<i>P.aeruginosa</i>	CC Seimc	VIM	Neg
<i>P.mirabilis</i>	Cepa clínica	BLEE	CTX-M-9 Grupo
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	OXA 48+NDM+CTX-M-15	Control invalido (CTX-M-1 y OXA 48 curva de poca intensidad)
<i>E.coli</i>	Cepa clínica	VIM	Neg
<i>K.pneumoniae</i>	Cepa clínica	KPC	Neg

Tabla 1: Resultados simulación hemocultivo positivo con un inóculo de 10^3 UFC/ml

Se realizaron 9 simulaciones con cepas MR con un inóculo de 10^5 UFC/ml.

De 9 cepas MR se detectaron 6 (CTX-M-1, OXA-48, CTX-M-1+OXA-48, CTX-M-1+OXA-48+NDM y 2VIM). Tres cepas presentan curva de amplificación de baja intensidad pero son interpretadas como negativas (CTX-M-15+NDM, 2KPC). Al repetir el ensayo directamente de colonia los resultados fueron positivos.

No se ha detectado ningún falso positivo en el ensayo.

CONCLUSIONES

1 - La detección directa de cepas MR de frasco de hemocultivo positivo mediante LAMP-PCR (Genie) es útil y fiable si el inóculo es elevado (10^8 UFC/ml) para BLEE CTX-M-1 grup.

2- A concentraciones inferiores puede ser útil siempre que se revisen las curvas de amplificación, puesto que pueden generarse falsos negativos si únicamente se tiene en cuenta la interpretación del programa.

3- Hay que tener en cuenta sólo detecta CTX-M-1/9, por lo que si la prevalencia de otras betalactamasas es elevada en la población estudiada podría suponer un infradiagnóstico de cepas productoras de BLEE.

4 - Es necesario ampliar el estudio utilizando hemocultivos positivos reales para poder utilizar esta técnica con total seguridad.

