



**Germans Trias i Pujol**  
Hospital  
Servei de Microbiologia

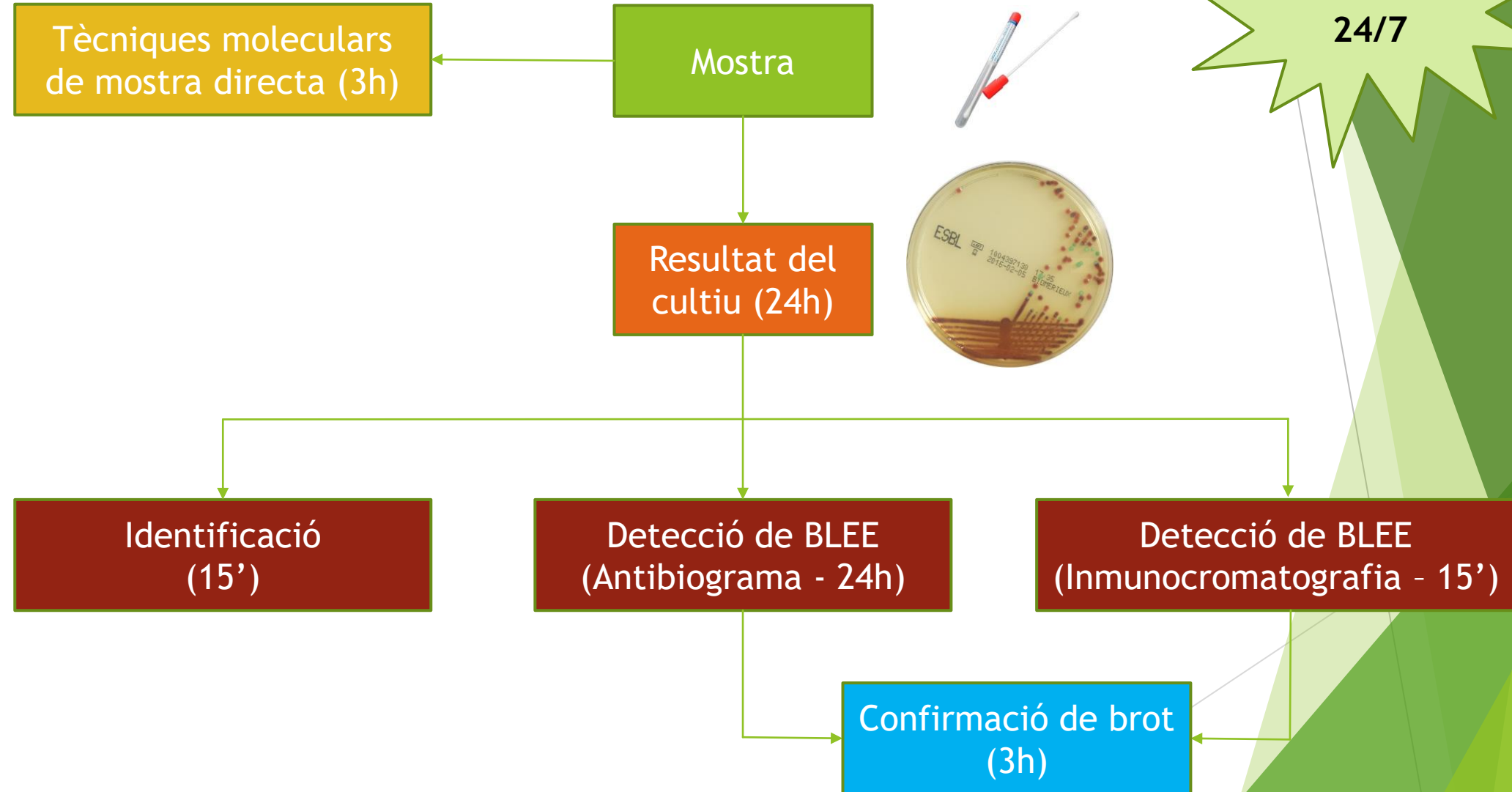
# Diagnòstic microbiològic i caracterització de brots

Jun Hao Wang Wang

Microbiologia Hospital Universitari Germans  
Trias i Pujol

2023

# Algoritme diagnòstic



# Cultiu

Mostra

Resultat del  
cultiu (24h)

**Procedimientos en Microbiología Clínica**

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica



**55** Métodos microbiológicos para la vigilancia del estado de portador de bacterias multirresistentes

Editores	Coordinador	Autores
Emilia Cercenado Mansilla Rafael Cantón Moreno	Jesús Oteo Iglesias	Germán Bou Arevalo Fernando Chaves Sánchez Antonio Oliver Palomo Jesús Oteo Iglesias

## 5.2.1.1. Selección de medios de cultivo y condiciones de incubación

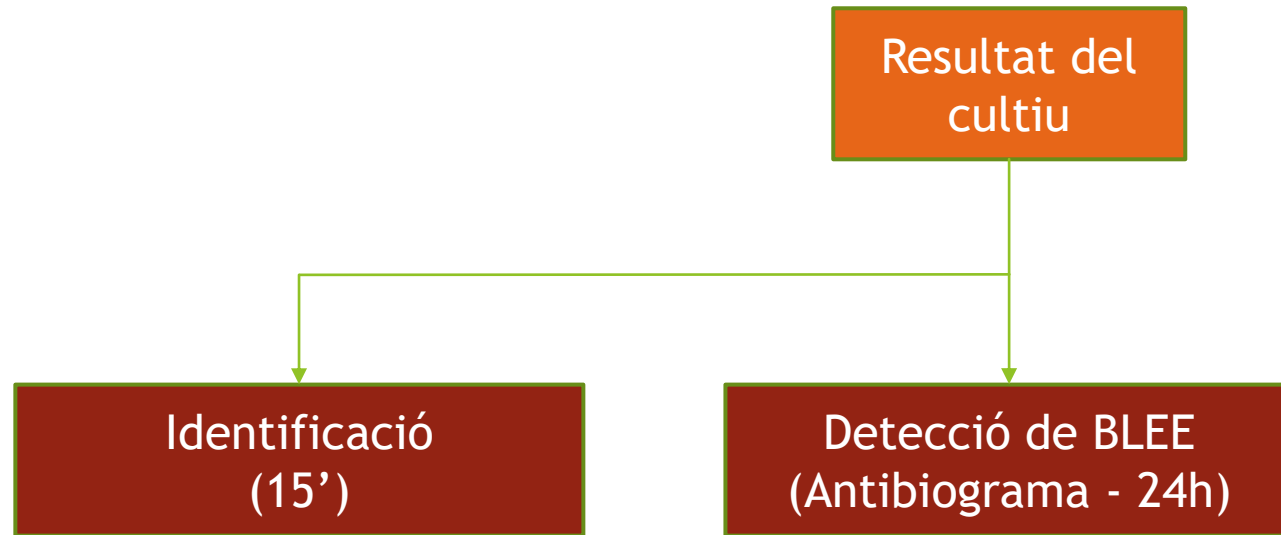
Como norma general es necesario emplear medios selectivos que permitan recuperar enterobacterias resistentes a cefalosporinas de 3ª generación y que eviten el crecimiento de la microbiota comensal sensible.



Font: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2015).

ChromID® ESBL (biomérieux)  
Medi cromogènic

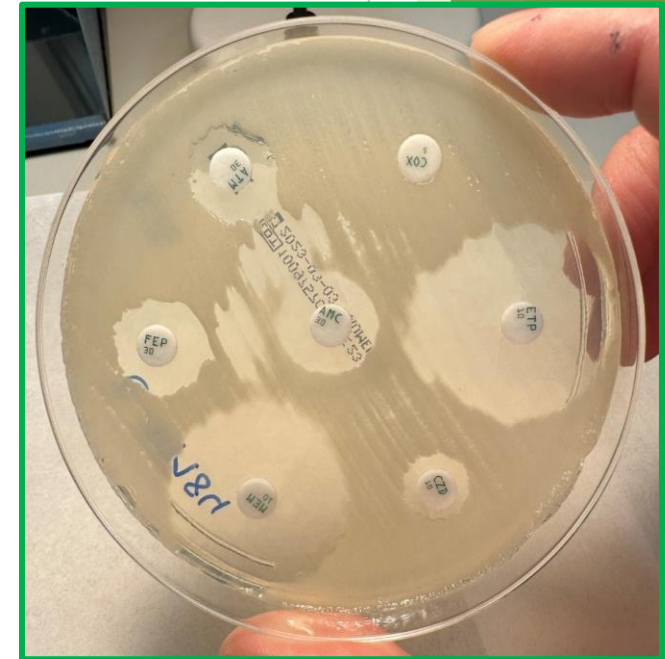
# Detecció de BLEE



Espectrometria de masses  
Equip MALDI-TOF MS (Bruker)

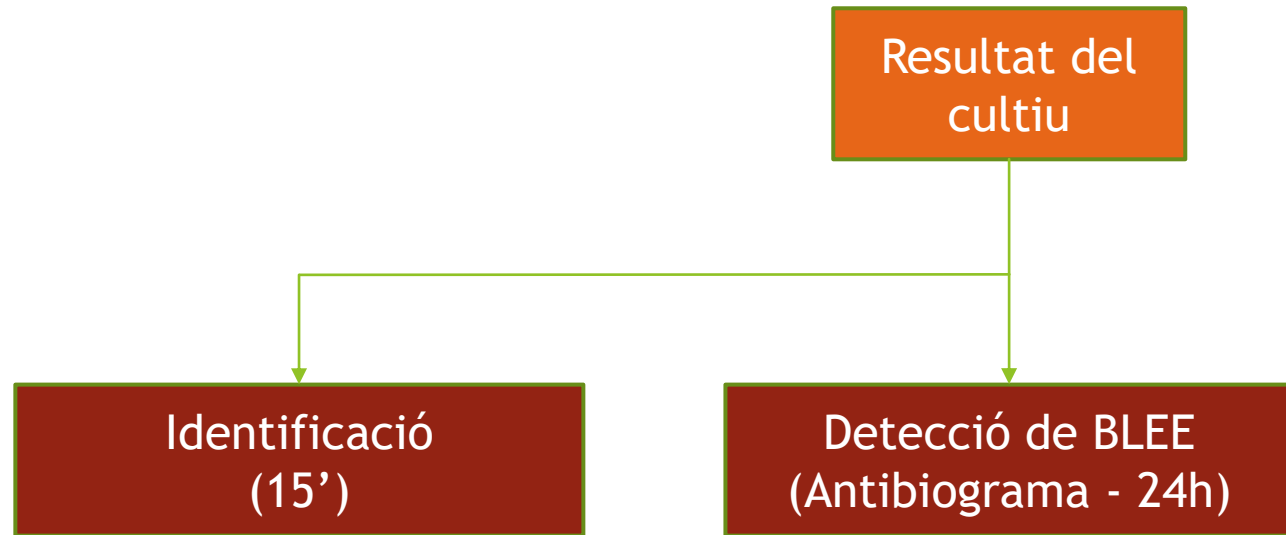


Discs d'antibiòtics (Bio-Rad)



Antibiograma disc-difusió

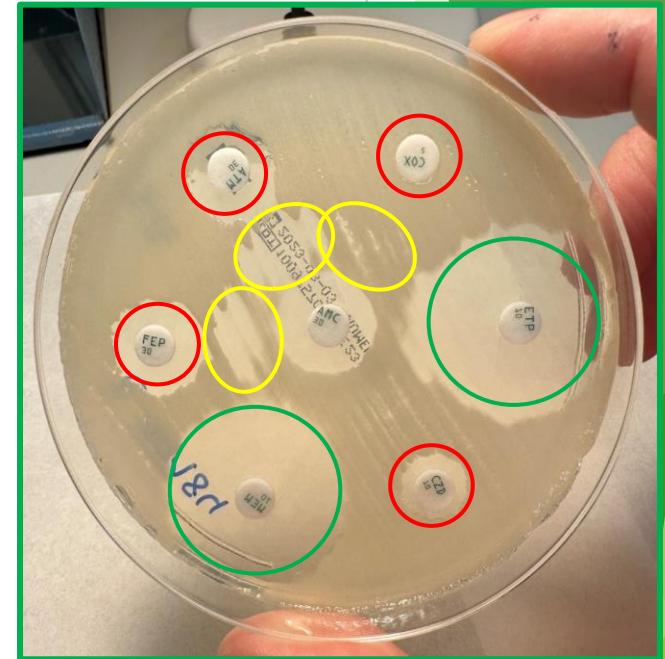
# Detecció de BLEE



Espectrometria de masses  
Equip MALDI-TOF MS (Bruker)



Discs d'antibiòtics (Bio-Rad)



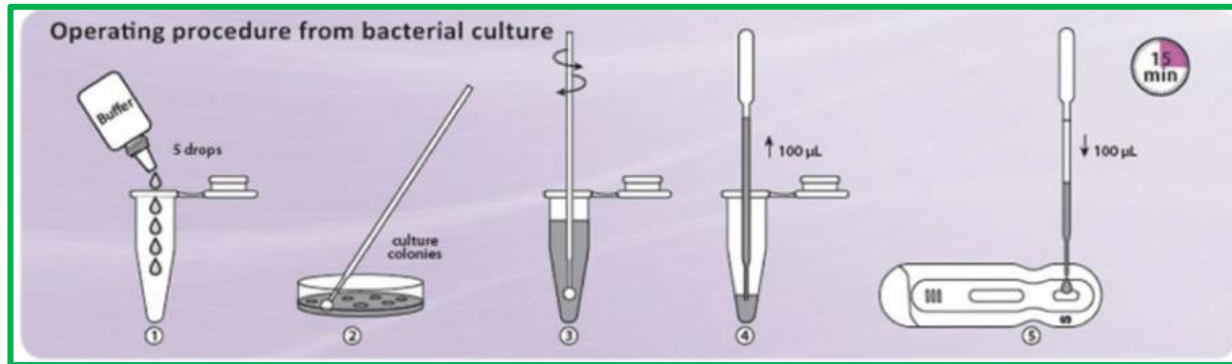
Patró compatible amb una  
 $\beta$ -lactamasa d'espectre estès  
(BLEE)

# Detecció de BLEE



15'

Resultat del cultiu



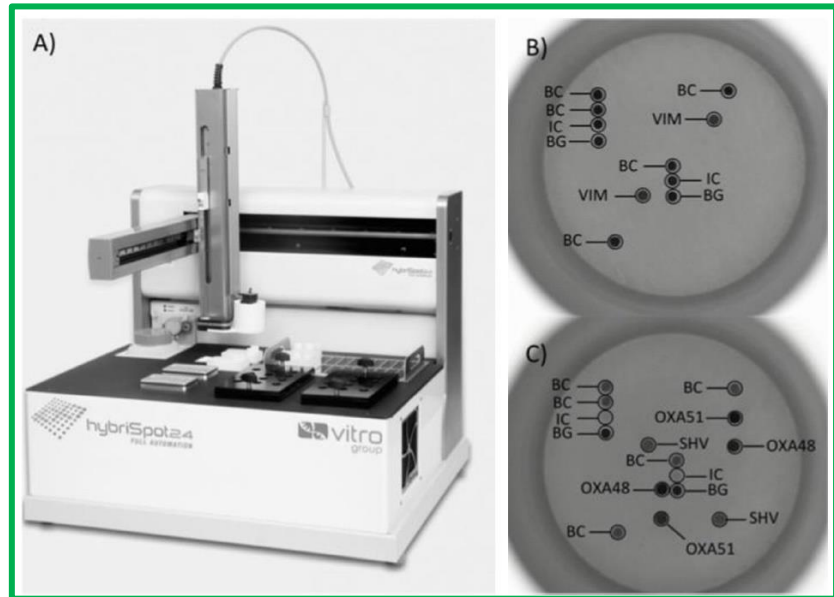
Detecció de BLEE  
(Immunocromatografia - 15')

NG-Test® CTX-M Multi (NG Biotech)

Tècniques ràpides i de fàcil interpretació

Detecten les BLEE més comunes (CTX-M)

# Detecció de BLEE



HybriSpot® (Vitro SA). Amplificació per hibridació inversa



Eazyplex® SuperBug CRE (Amplex). Amplificació isotèrmica

Tècniques moleculars  
de mostra directa (3h)

Mostra



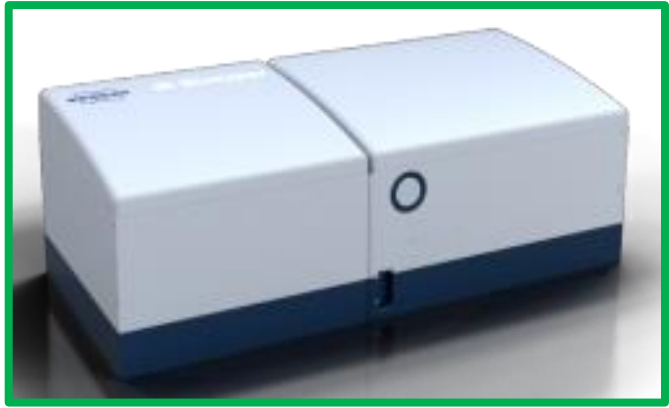
3h

Tècniques moleculars mitjançant PCR

Es poden realitzar des de mostra  
directa o des de cultiu







Espectroscopia  
d'infrarojos (FTIR) com  
eina per detecció ràpida  
de brots nosocomials de  
*Klebsiella pneumoniae*  
BLEE

# Tecnologia FTIR per detectar brots

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases

<https://doi.org/10.1007/s10096-018-3431-3>

REVIEW

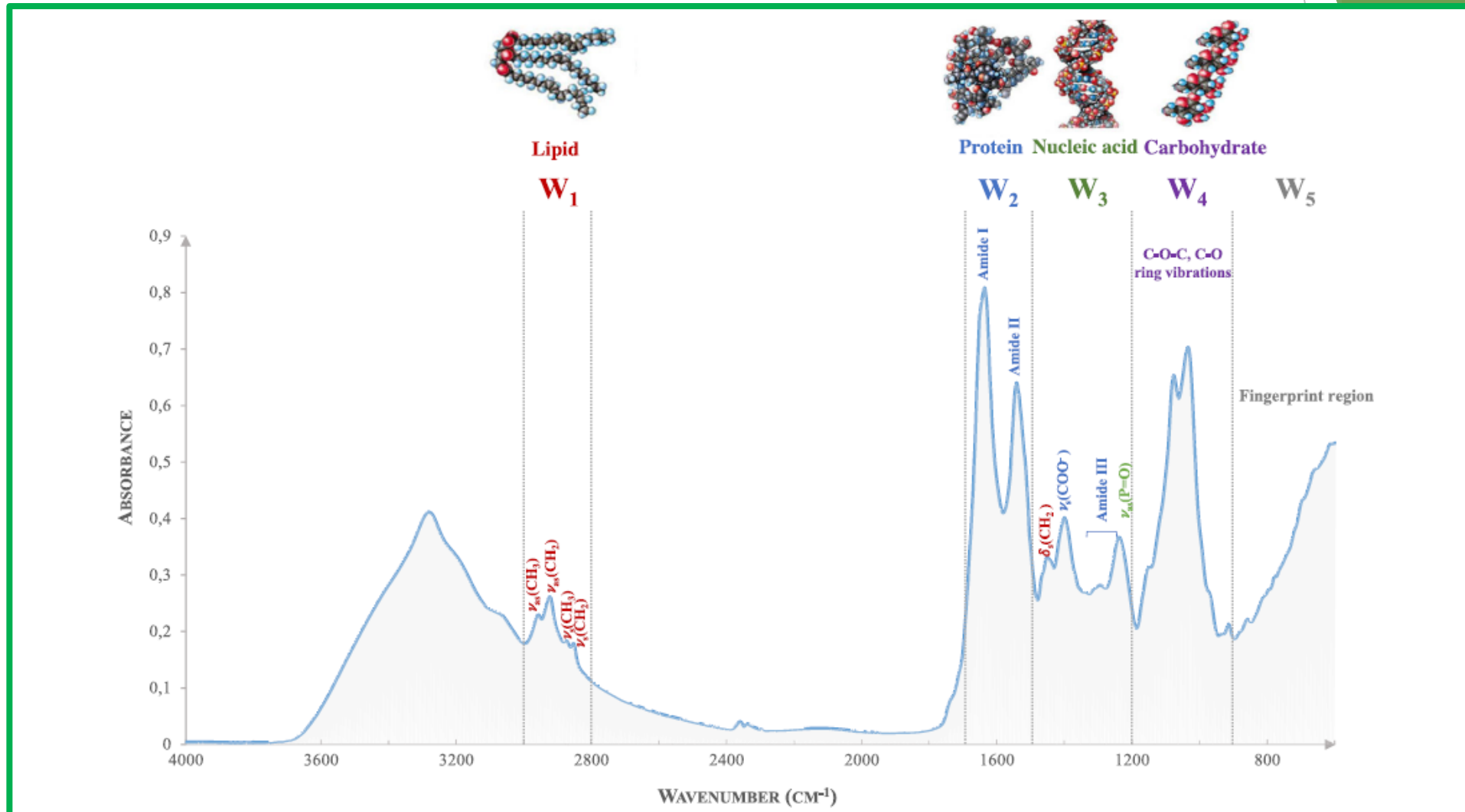


## Fourier transform infrared spectroscopy: unlocking fundamentals and prospects for bacterial strain typing

Font Novais *et al Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2018)

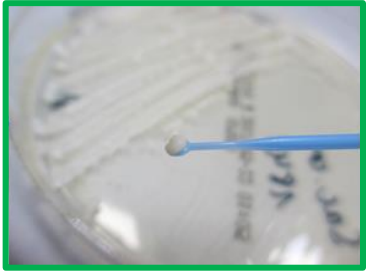
- Tècnica fenotípica mitjançant espectroscòpia d'infrarojos.
- Fonament: Mitjançant energia d'infrarojos s'exciten i vibren els diferents grups químics i funcionals de la mostra (lípid, àcid nucleic, carbohidrat, etc.). Aquestes vibracions generen un espectre d'absorbàncies característic per cada mostra.

# Tecnologia FTIR per detectar brots



Font: Novais *et al Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2018)

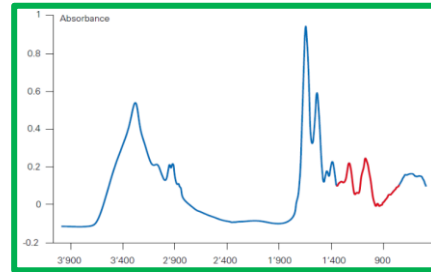
# Tecnologia FTIR per detectar brots



1



2-3



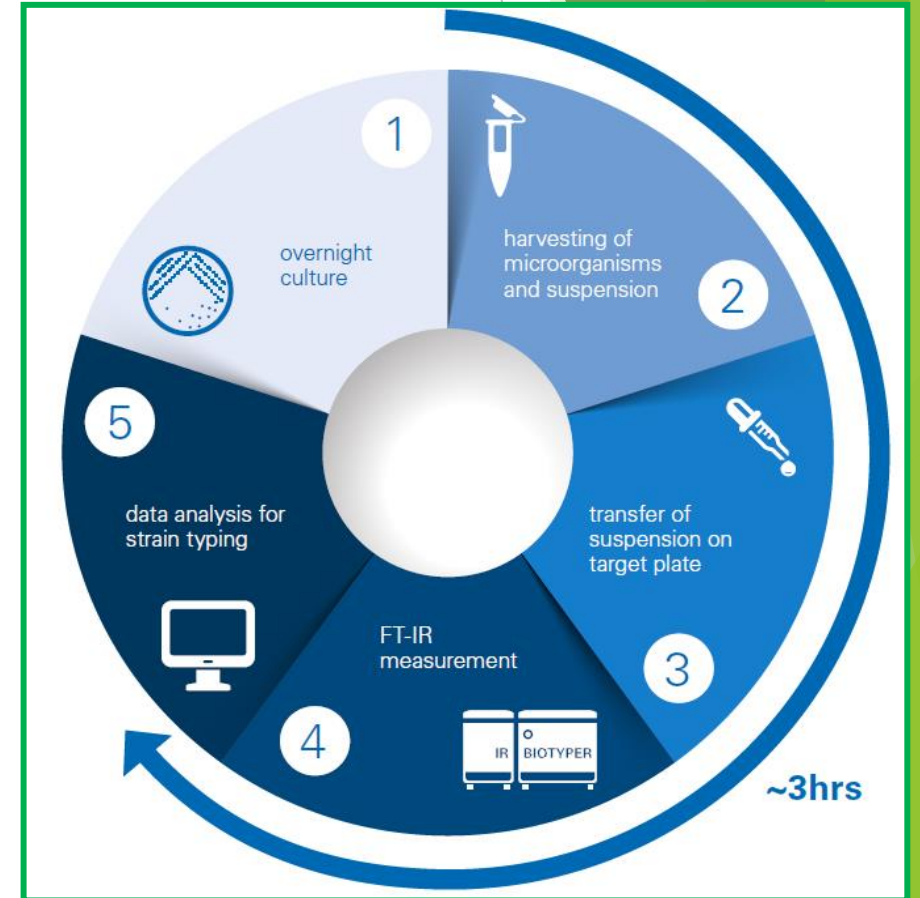
4-5

## Avantatges

- Ràpida (1-3h a partir de cultiu)
- Senzilla i poc laboriosa

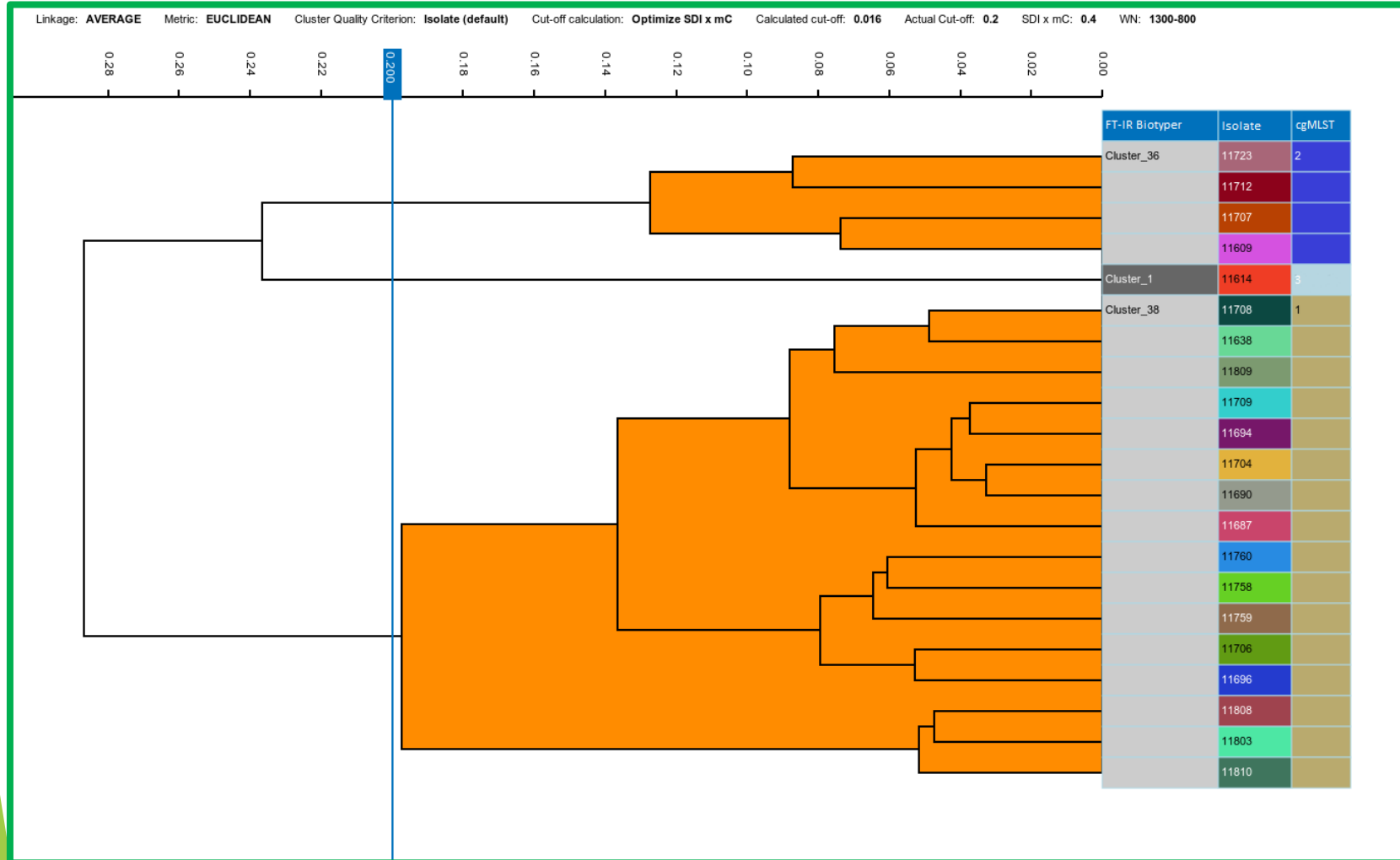
## Inconvenients

- No indica ST ni perfil de resistències
- Poder resolutiu menor WGS
- No útil per a tots els microorganismes



Font: Bruker Daltonik GmbH

# Tecnologia FTIR per detectar brots



Establir un punt de tall  
Validació mitjançant cgMLST

Dendograma

Clúster

Informació via e-mail al GCI

# Tecnologia FTIR per detectar brots



OPEN ACCESS

**Edited by:**

Pablo Power,  
Universidad de Buenos Aires,  
Argentina

**Reviewed by:**

Angela Novais,  
University of Porto,  
Portugal  
Yanyan Hu,  
Zhejiang University, China

**\*Correspondence:**

## Evaluation of Fourier Transform Infrared Spectroscopy as a First-Line Typing Tool for the Identification of Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreaks in the Hospital Setting

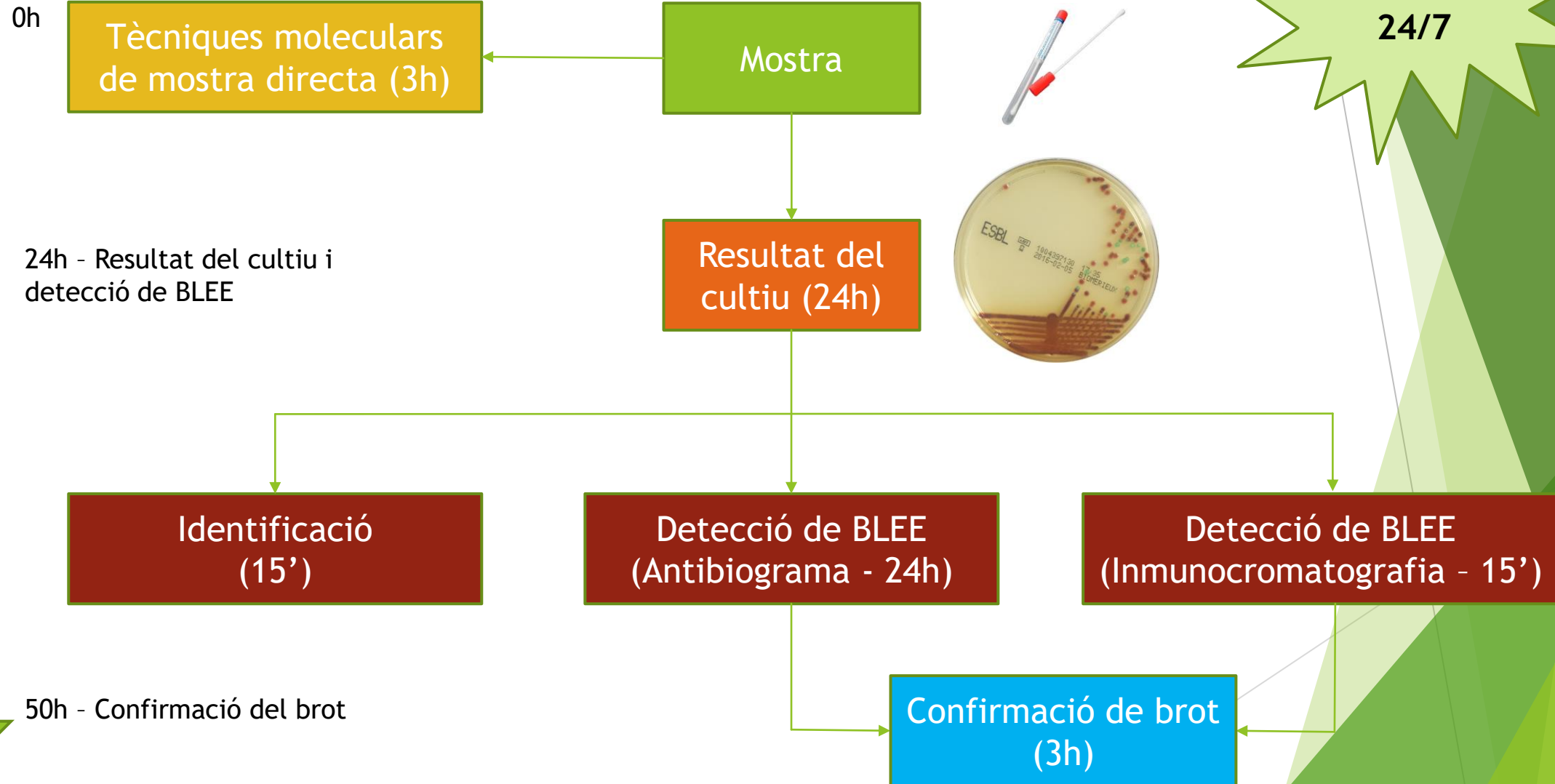
Jun Hao Wang-Wang<sup>1,2†</sup>, Antoni E. Bordoy<sup>1,3†</sup>, Elisa Martró<sup>1,2,3,4</sup>,  
María Dolores Quesada<sup>1,2,4</sup>, María Pérez-Vázquez<sup>5,6</sup>, Mercedes Guerrero-Murillo<sup>7,8</sup>,  
Andrea Tiburcio<sup>1</sup>, Marina Navarro<sup>1</sup>, Laia Castellà<sup>9</sup>, Nieves Sopena<sup>10</sup>, Irma Casas<sup>11</sup>,  
Verónica Saludes<sup>1,2,3,4†</sup>, Montserrat Giménez<sup>1,4†</sup> and Pere-Joan Cardona<sup>1,2,3,12\*†</sup>

Validació amb 63  
*ESBL-Kp* mitjançant  
seqüenciació:

- Eina *user-friendly* per a un laboratori de microbiologia assistencial
- Útil pel maneig de brots epidèmics

# Algoritme diagnòstic

Servei  
24/7



# Actuacions del GCI



Tipat







**Germans Trias i Pujol**  
Hospital  
Servei de Microbiologia

**Moltes gràcies  
per la vostra  
atenció**



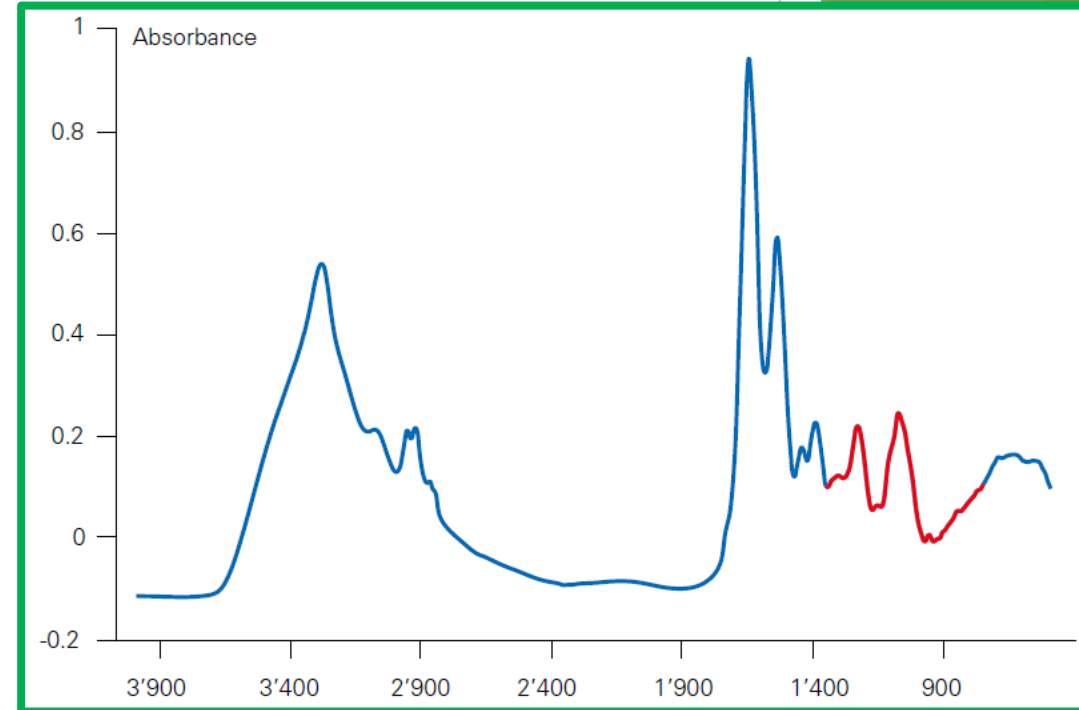
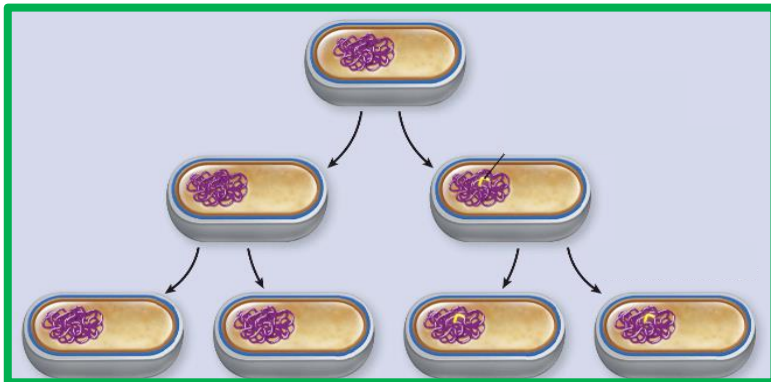
**Germans Trias i Pujol**  
Hospital  
Servei de Microbiologia



**Germans Trias i Pujol**  
Hospital  
Servei de Microbiologia

# Tecnologia FTIR per detectar brots

- La regió amb més poder resoltiu es la de  $1300\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ . Corresponen als polisacàrids de la paret cel·lular de la bacteriana.
- Mitjançant diverses fórmules matemàtiques (transformada de Fourier), es comparen les similituds de les regions del espectre i s'infereix la probabilitat que pertanyin a la mateixa clona/llinatge.



Font: Bruker Daltonics GmbH

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)e^{-j2\pi ft} dt$$

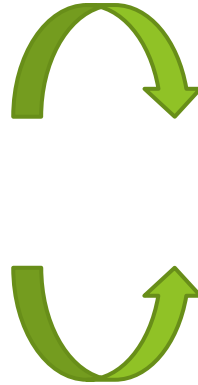
# Metodología

		"Gold Standard"	
		Enferm SI	Enferm NO
Resultado prueba	+	a	b
	-	c	d

a = verdadero positivo  
 d = verdadero negativo  
 b = falso positivo  
 c = falso negativo

Sensibilidad (a / a+c)  
 Especificidad (d / b+d)

Sensibilidad = proporción de personas CON la enfermedad que tienen la prueba +  
 Especificidad = proporción de personas SIN la enfermedad que tienen la prueba -  
 Precisión = correctamente diagnosticados = a+d/a+b+c+d



		WGS clustering											Singleton	Total		
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI				
FTIR clustering	1	13														13
	2		4													4
	3			2											1	3
	4	1			2		2	2	2						5	14
	5					2										2
	6												2			2
	7									3						3
	8										2					2
	9										2					2
	10														2	2
	Singleton	2										1		13	16	
	Total	16	4	2	2	2	2	2	2	3	4	3		21	63	

No es possible calcular S, E, VPP y VPN

Són taules de contingencia "de 12 x 12"...