

A N E X O: Detección rápida desde botella de hemocultivo³

Protocolo del Servicio ANTIMICROBIANOS,
Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos,
INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

El siguiente protocolo fue validado utilizando botellas BACTEC/BD. Usuarios de otras marcas deberán homologar en sus respectivos sistemas las presentes recomendaciones.

- a. Extraiga una alícuota de 8-10 mL de cada vial de hemocultivo positivo en el mismo día en que el crecimiento bacteriano ha sido detectado por el sistema automatizado y cuya coloración de Gram sugiera presencia de bacilos gram negativos.
- b. Coloque esta alícuota en un tubo que contiene un gel de separador y activador de coagulación (Preferentemente BD Vacutainer SST, Becton Dickinson)
- c. Centrifugar los tubos a 10.000 rpm durante 5-10 minutos, o alternativamente, a 4000 rpm durante 15-20 minutos. **Luego de este procedimiento, se observará el sedimento bacteriano sobre el gel activador**
- d. Descartar el sobrenadante (residuo patológico, tome precauciones)
- e. Resuspender el pellet con 1 ml de agua destilada estéril pH 7.0.
- f. Vortexear vigorosamente hasta resuspender (breves segundos)
- g. Centrifugar 3-5 minutos a >2000 rpm
- h. Descartar el sobrenadante (residuo patológico, tome precauciones).

Nota A. 1: en el pellet, junto con el sedimento bacteriano, podrían observarse macroscópicamente restos de gel activador y glóbulos rojos no lisados durante el lavado. No es necesaria ninguna acción adicional ya que estos detritos NO INTERFERIRAN con el ensayo del Blue-carba.

Nota A. 2: si considerada necesario, puede realizar un lavado adicional del pellet con H₂O dest. estéril pH 7.0 para reducir los residuos de glóbulos rojos, si estos fueran abundantes.

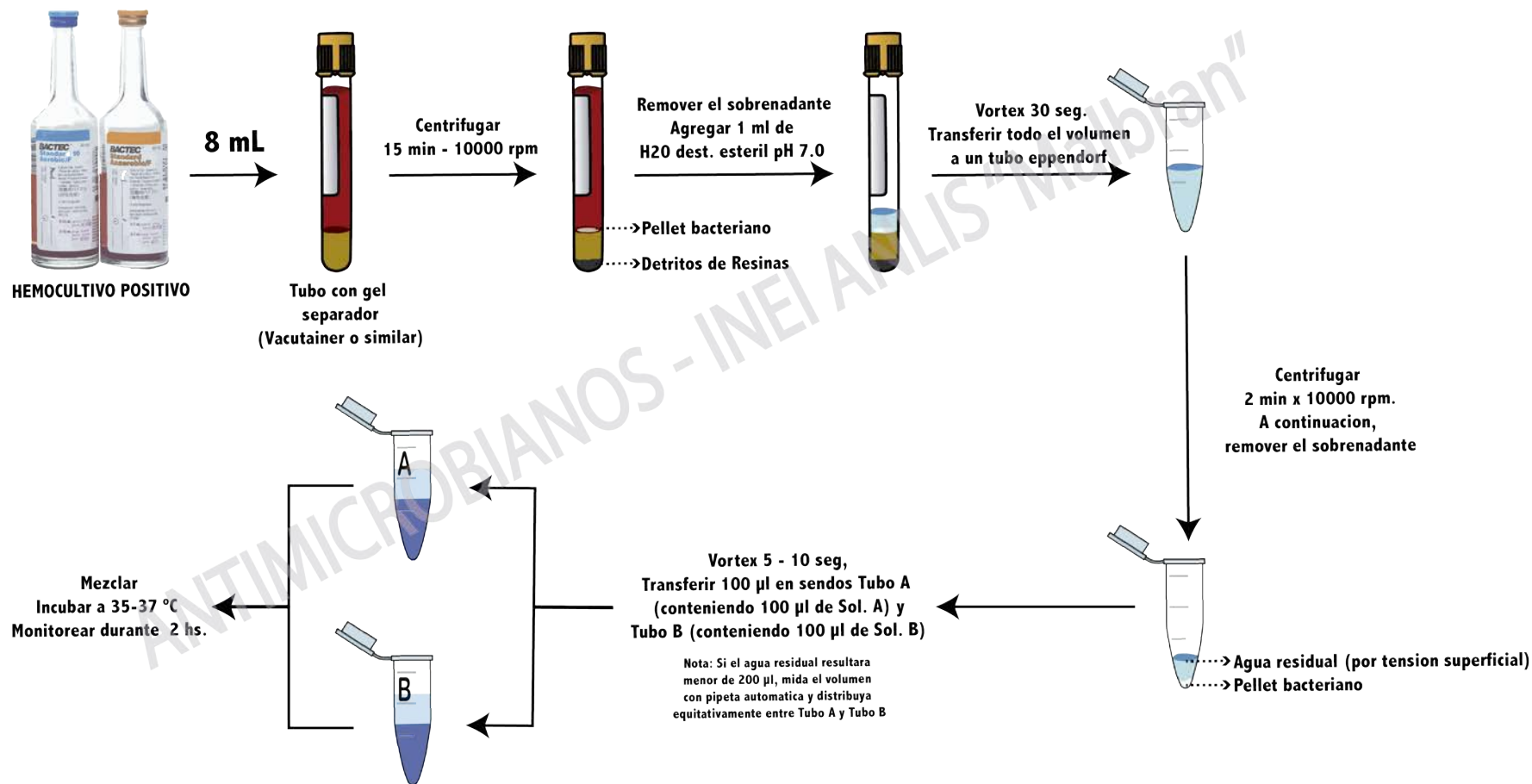
- i. Con un ansa descartable o micro-pipeta (según la consistencia del pellet) reparta el sedimento obtenido en partes idénticas en dos tubos eppendorf rotulados como control y reacción.
- j. En cada uno de ellos, agregue 100 microlitros de Solución A (tubo control) o 100 microlitros Solución A + imipenem 3 mg/ml (tubo de reacción) según el procedimiento descrito para el ensayo directo de placa de cultivo.
- k. Tape los tubos eppendorf.
- l. Incube a 35-37°C por un máximo de 2 horas en agitación (si no cuenta con un agitador continuo, agite manualmente cada 15 minutos).
- m. Lectura a ojo desnudo del color de cada pocillo/tubo.
- n. Utilice los criterios de interpretación del punto 6.

Nota A. 3: la hemoglobina residual de los frascos de hemocultivo podría producir un viraje espontaneo del tubo control del azul a verde. En caso que ello ocurra, utilice los criterios III y V (punto 6) para interpretar el ensayo como positivo o negativo, respectivamente.

Bibliografía:

3. Pasteran F, Ceriana P, Albornoz E, Kaufman S, Corso A. Rapid Detection of Carbapenemase-Producing Gram Negative Bacilli from Blood Cultures Using the Blue-Carba Test (BCT). ECCMID 2015. Abstract No: ECCMID-0337.

Esquema simplificado para la detección rápida desde botella de hemocultivo



ECCMID-0337