

XXIII CONGRESO SADI 2023, 13-15 SEPTIEMBRE 2023, BUENOS AIRES

NUEVO SISTEMA DE PCR EN TIEMPO REAL PARA LA IDENTIFICACIÓN SIMULTÁNEA DE LAS CARBAPENEMASAS KPC, NDM, CIM, IMP Y OXA-48-LIKE EN ENTEROBACTERALES.

E. Albornoz, M. Rapoport, F. Martino, B. Sanz, A. Menocal, J. M de Mendieta, M. Echegorry, F. Pasteran, A. Petroni, A. Corso., D. Faccone

Servicio Antimicrobianos, INEI-ANLIS "Dr. C. Malbrán", CABA

Introducción: El aumento de la prevalencia de patógenos extremadamente resistentes a los antimicrobianos, y en particular los aislamientos de Enterobacteriales productores de carbapenemasas (CBPs) es un desafío para los sistemas de salud. Una consecuencia tecnológica de la pandemia por COVID-19 es la adquisición de equipamiento de PCR en tiempo real (qPCR) por las instituciones de salud, el cual puede ser utilizado para la detección e identificación temprana de CBP.

Objetivo: Poner a punto un sistema de detección e identificación de las principales CBP de Enterobacteriales analizando las curvas de melting de los productos de amplificación obtenidos por qPCR multiplex.

M&M: Para las reacciones de qPCR se utilizó la mezcla MeltDoctor®HRM (Applied Biosystems) en un volumen final de 20uL. Se utilizaron los primers (concentración) de Monteiro J. et. al. 2012. (doi:10.1093/jac/dkr563) para amplificar *blaKPC* (0,2mM), *blaNDM* (0,4mM) y *blaOXA-48-like* (0,2mM). Se diseñaron los primers para *blaVIM* (0,2mM), VIM-RT-F AGTGGTGAGTATCCGACAG; VIM-RT-R ATGAAAGTGCGTGGAGAC; y *blaIMP* (0,6mM) IMP-RT-F GAGTGGCTTAATTCTCRATC; IMP-RT-R GGYARCCAAACCACTASGTTATCT. Se utilizó el equipo AriaMX System (Agilent), la curva de melting se realizó con una resolución de 0,2°C/5 segundos. Se utilizaron 38 Enterobacteriales con las variantes de CBP más frecuentes en nuestro país. Los aislamientos presentaban entre 1 y 3 genes de CBPs. La extracción de ADN se realizó por la técnica de boiling.

Resultados: Los 38 aislamientos rindieron amplificación positiva entre los ciclos 12,68 y 24,1. Se definió un Ct máximo de 25 ciclos para considerar amplificación positiva. Para cada gen se obtuvo un rango de temperatura de melting ($T^{\circ}m$) acotado, salvo para KPC que tuvo el rango más amplio de 1,32°C (Tabla). No se solaparon los rangos de $T^{\circ}m$ definido para cada gen. La presencia de múltiples CBPs pudieron ser correctamente identificadas.

Carbapenemasa	Rango $T^{\circ}m$	Variantes
IMP	76,26-77,12	IMP-8
OXA-48L	78,05-79,15	OXA-48; OXA-163
NDM	81,33-82,14	NDM-1; NDM-5
VIM	83,27-84,04	VIM-2; VIM-36
KPC	88,25-89,57	KPC-2; KPC-3

Discusión: El sistema basado en el análisis de productos de qPCR aquí presentado permitió la correcta detección e identificación de las variantes de CBP más comunes de Enterobacteriales de nuestro país. La detección de variantes inusuales puede dar perfiles de $T^{\circ}m$ por fuera de los rangos obtenidos, por lo que deberían ser contrastados por otra técnica o derivados a un laboratorio de referencia. La correlación entre la fenotipia y la detección molecular debería ser monitoreada. La identificación temprana del tipo de CBP en infecciones severas tiene un impacto directo sobre la optimización del tratamiento.