Protocolo simplificado de Carba NP para la detección de carbapenemasas directamente de cultivos

Simplified protocol for Carba NP test for enhanced detection of carbapenemase producers directly from bacterial cultures

Pasterán F, Tijet N, Melano R G, Corso A. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 3908-11

El test Carba NP (CNPt) es una prueba bioquímica de detección rápida (2 h) de producción de carbapenemasas en bacilos gramnegativos. Está basado en la hidrólisis de imipenem por un lisado bacteriano, lo que es detectado por un cambio de pH, utilizando como indicador el rojo fenol, que vira de rojo a naranja/amarillo. Este test ha demostrado ser altamente sensible para la detección de carbapenemasas de *Klebsiella pneumoniae* (KPC) y metalobetalactamasas (MBL); sin embargo, presenta problemas para la detección de cepas productoras de OXA-48, con una sensibilidad que varía de 11-100%. Otra desventaja es el costo del tampón de extracción (B-PER II). El CLSI recomienda que cepas de enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. con CIM elevadas a carbapenémicos o con reducción de la zona de inhibición en método de difusión deben ser testeadas en búsqueda de carbapenemasas, ya sea por interés epidemiológico o de control de infecciones, utilizando el CNPt.

Objetivo: Evaluar un protocolo simplificado de CNPt, directamente desde la colonia.

Material y Método: Se estudió un total de 266 aislados clínicos, 161 productores de carbapenemasas y 105 no productores de carbapenemasas (cepas provenientes de 22 países). Se consideró como estándar de oro el análisis con RPC y posterior secuenciamiento. Las cepas no productoras de carbapenemasas debido a sobreexpresión de AmpC cromosomal, plasmidial o BLEE, más impermeabilidad o eflujo, fueron caracterizadas previamente. Los aislados estaban previamente identificados con paneles bioquímicos convencionales o usando espectrometría de masas (MALDI-TOF). La técnica fue realizada siguiendo el protocolo del CLSI. Se describe un protocolo modificado, utilizando colonias directas en vez de un extracto bacteriano.

Resultados: Este test detecta la mayoría de las carbapenemasas clase A, con excepción de KPC-2 de *P. aeruginosa*, de *K. pneumoniae* con CIM de 0,03 µg/ml y productoras de enzimas con lenta hidrólisis de imipenem, tales como SME o GES. Los resultados no fueron óptimos con carbapenemasas clase B o D. La mayoría de metalobetalactamasas que no fueron detectadas pertenecían a la tribu *Proteae*: dos cepas de *Proteus mirabilis* con expresión de IMP-27 o NDM-1, tres *Providencia stuartii* y una *Providencia rettgeri* productoras de NDM-1; dos *Enterobacter cloacae* con aislados con VIM-2 o VIM-11,

con CIM de imipenem de 0,25 µg/ml. Entre los productores de OXA, los falsos negativos fueron encontrados en dos *Escherichia coli* productoras de OXA-181, dos productoras de OXA-244, una con OXA-48 y una *K. pneumoniae* productora de OXA-232. Estos resultados disminuyen la sensibilidad y valor predictor negativo (VPN) del test a 84%. Todas las cepas no productoras de carbapenemasas fueron negativas, lo que confirma una especificidad y valor predictor positivo (VPP) de 100%. La modificación realizada con el protocolo de CNPt-directo permitió disminuir los falsos negativos. Sólo permanecieron negativos los aislados productores de IMP-27 (*P. mirabilis*), dos productores de OXA-244 y OXA-232 (*E. coli* y *K. pneumoniae*, respectivamente). Estos resultados aumentaron la sensibilidad del test a 98% y el VPN a 97%. Esta mayor detección puede deberse a la ausencia de solución tampón residual. El protocolo CNPt-directo fue testado también con carbapenemasas adquiridas, OXA de *Acinetobacter* spp. de aislados clínicos, donde la mayoría de las cepas productoras de OXA resultaron positivas, con excepción de OXA-23 y OXA-58. La modificación realizada al CNPt permitió una mayor sensibilidad, mayor facilidad de ejecución y menor costo, por el costo del tampón de extracción, incluso se describió una mayor rapidez en el viraje en algunos casos (35% de NDM). Cabe destacar que se obtuvieron los mismos resultados utilizando imipenem monohidrato y la forma comercial de imipenem/cilastatina.

Conclusión: Se propone una modificación a la técnica CNPt por CNPt-directa, lo que facilita su implementación en laboratorios de rutina, ya que permite evitar el paso de la extracción con tampón, lo que además reduce los costos. Para los laboratorios preocupados por OXA-48 o NDM-1 en especies de *Proteus*, este protocolo permite mayor detección de estos tipos de carbapenemasas, minimizando el número de cepas negativas y la necesidad de utilizar otros métodos confirmatorios.

Andrea Sakurada

Clínica Tabancura

Comité de Microbiología Clínica

Correspondencia a:
andreasakurada@gmail.com