

Identificación bacteriana en endocarditis infecciosa mediante secuenciación masiva de lectura larga del gen ARNr 16S

Sonia Molinos¹, Antoni Escales Bordoy¹, Laia Soler¹, Nuria Vallejo², Elisabet Berastegui³, Lourdes Mateu⁴, Pere-Joan Cardona^{1,5}, Elisa Martró^{1,6}, M^a Dolores Quesada¹, Verónica Saludes^{1,6}

1. Servicio de Microbiología, Hospital e Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol (HUGTiP), Badalona; 2. Servicio de Cardiología, HUGTiP; 3. Servicio de Cirugía Cardiovascular, HUGTiP; 4. Servicio de Enfermedades Infecciosas, HUGTiP; 5. CIBER en Enfermedades Respiratorias (CIBERES), ISCIII, Madrid; 6. CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), ISCIII.

ciber | **ESP** **ciber** | **ES**


Germans Trias i Pujol
Hospital


IGTP ^R
Institut de Recerca Germans Trias i Pujol

.....Aumento de casos ei.....

Factores de Riesgo

- Edad >60^a / Sexo: masculino/ ADV
- Mala higiene dental
- Cardiopatía (estructural, Valvulopatía (reumática, prolapso mitral, ...), Cardiopatía congénita, Prótesis valvulares
- EI previa
- Dispositivo intravascular
- Hemodialissi
- VIH

International Journal of Cardiology 371 (2023) 441–451



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Cardiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijcard

Trends in the incidence and mortality of infective endocarditis in high-income countries between 1990 and 2019

Matthew Hammond-Haley^{a,b,*}, Adam Hartley^{b,c}, Becker M. Al-Khayatt^{b,d}, Augustin J. Delago^{b,e}, Alireza Ghajar^{b,f}, Utkarsh Ojha^{b,g}, Dominic C. Marshall^{b,c}, Justin D. Saliccioli^{b,f}, Bernard D. Prendergast^h, Joseph Shalhoub^{b,i}

^a King's College Hospital NHS Foundation Trust, London, UK

Cambio en los protocolos de profilaxis ?

Aparición de nuevas herramientas para el diagnostico

2,7/100.000 personas-año en 2003
3,49/100.00 personas-año en 2014

Olmos C et al. J Am Coll Cardiol 2017



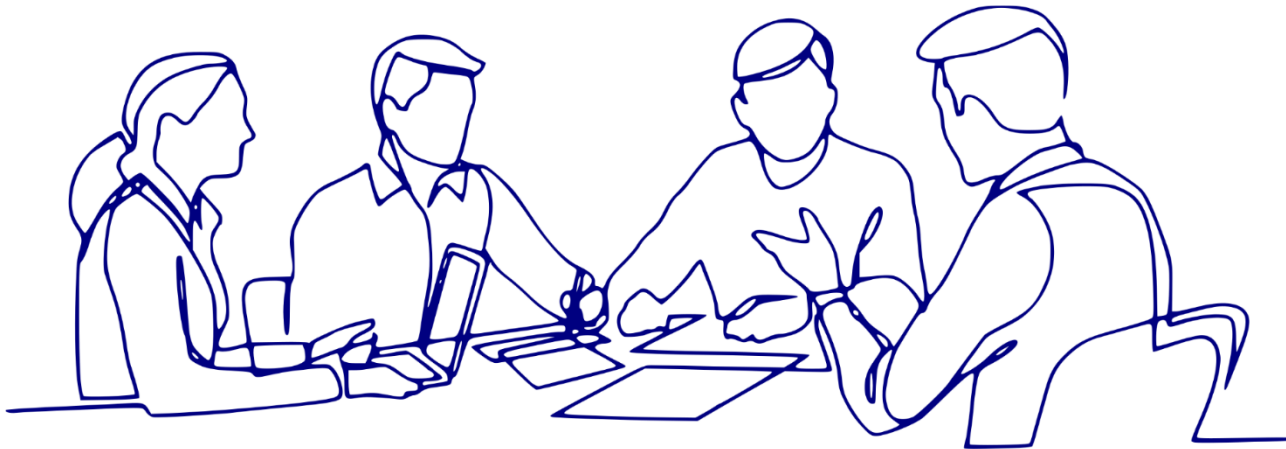
13,8/100.000 personas-año en 2019

Técnicas de Imagen

- Aumento Ecocardiografía en HC *E.faecalis*
- Técnicas de imagen nuclear han aumentado casos definidos de EI (pròtesis valvulares/DAI)

Importancia del equipo multidisciplinar en el diagnóstico de Endocarditis Infecciosa

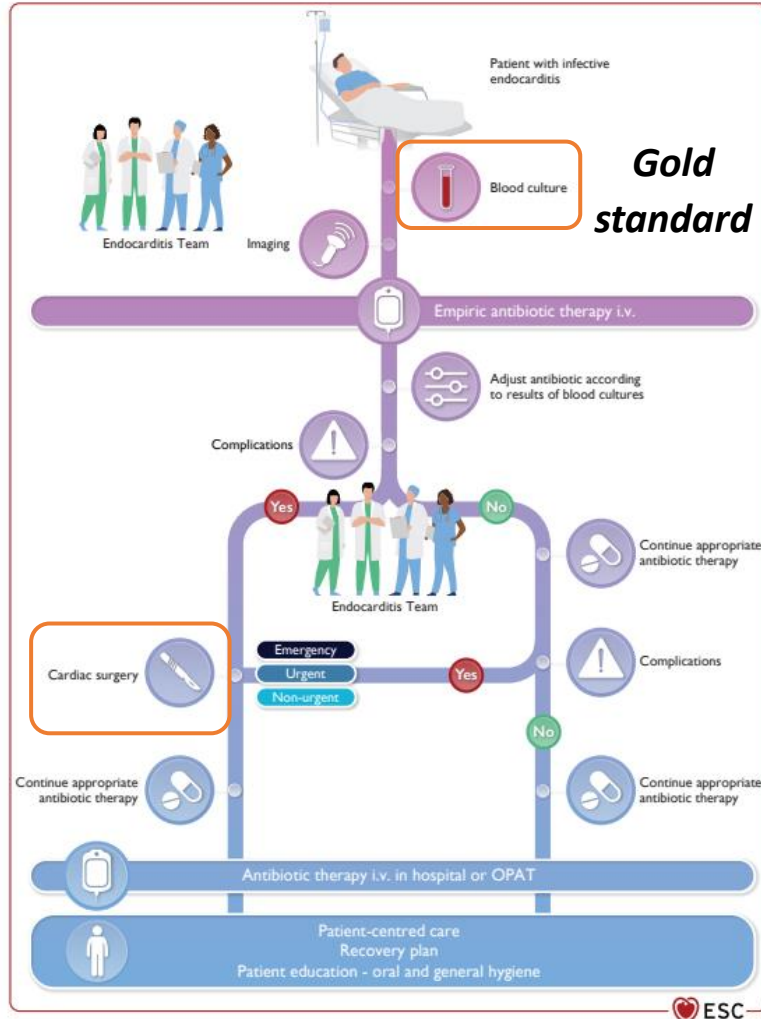
Microbiólogo
Radiólogo
Cardiólogo Bioinformático
Cirujano cardíaco
Internista (Enfermedades Infecciosas)
Biólogo molecular
Neurólogo



PORQUÉ?

- Disminuir la mortalidad
- Diagnóstico precoz
- Disminuir el tiempo de inicio de tratamiento antibiótico adecuado
- Diagnóstico precoz de las complicaciones
- Disminuir el tiempo a la cirugía

2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis



Hemocultivo Gold Estándar

- **10-70% hemo negativo (*Blood culture-negative infective endocarditis - BCNIE*):**
Administración previa antibióticos, infección por hongos o bacterias exigentes
- **42% El requerirá reparación quirúrgica o reemplazo de válvula cardíaca → 80% si BCNIE**
- **El tejido (El válvula nativa) o material protésico (El válvula protésica) obtenido en cirugía:**
Examinar histológicamente, cultivar (S 25%; E 72%), sec. ARNr 16S muestra directa

Figure 1 Management of patients with infective endocarditis. i.v., intravenous; OPAT, outpatient parenteral antibiotic therapy.

2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis

Developed by the task force on the management of endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC)

Endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Association of Nuclear Medicine (EANM)

Authors/Task Force Members: Victoria Delgado ¹, (Chairperson) (Spain), Nina Ajmone Marsan ², (Task Force Co-ordinator) (Netherlands), Suzanne de Waha ³, (Task Force Co-ordinator) (Germany), Nikolaos Bonaros ⁴ (Austria), Margarita Brida ⁵ (Croatia), Haran Burri ⁶ (Switzerland), Stefano Caselli ⁷ (Switzerland), Torsten Doenst ⁸ (Germany), Stephane Ederhy ⁹ (France), Paola Anna Erba ¹⁰ (Italy), Dan Foldager (Denmark), Emil L. Fosbol ¹¹ (Denmark), Jan Kovac (United Kingdom), Carlos A. Mestres ¹² (South Africa), Owen I. Miller ¹³ (United Kingdom), Jose M. Miro ¹⁴ (Spain), Michal Pazdernik ¹⁵ (Czech Republic), Maria Nazarena Pizzi ¹⁶ (Spain), Eduard Quintana ¹⁷ (Spain), Trine Bernholdt Rasmussen ¹⁸ (Denmark), Arsen D. Ristic ¹⁹ (Serbia), Josep Rodés-Cabau (Canada), Alessandro Sionis ²⁰ (Spain), Liest Joanna Zühlke ²¹ (South Africa), Michael A. Borger ²², (Chairperson) (Germany), and ESC Scientific Document Group

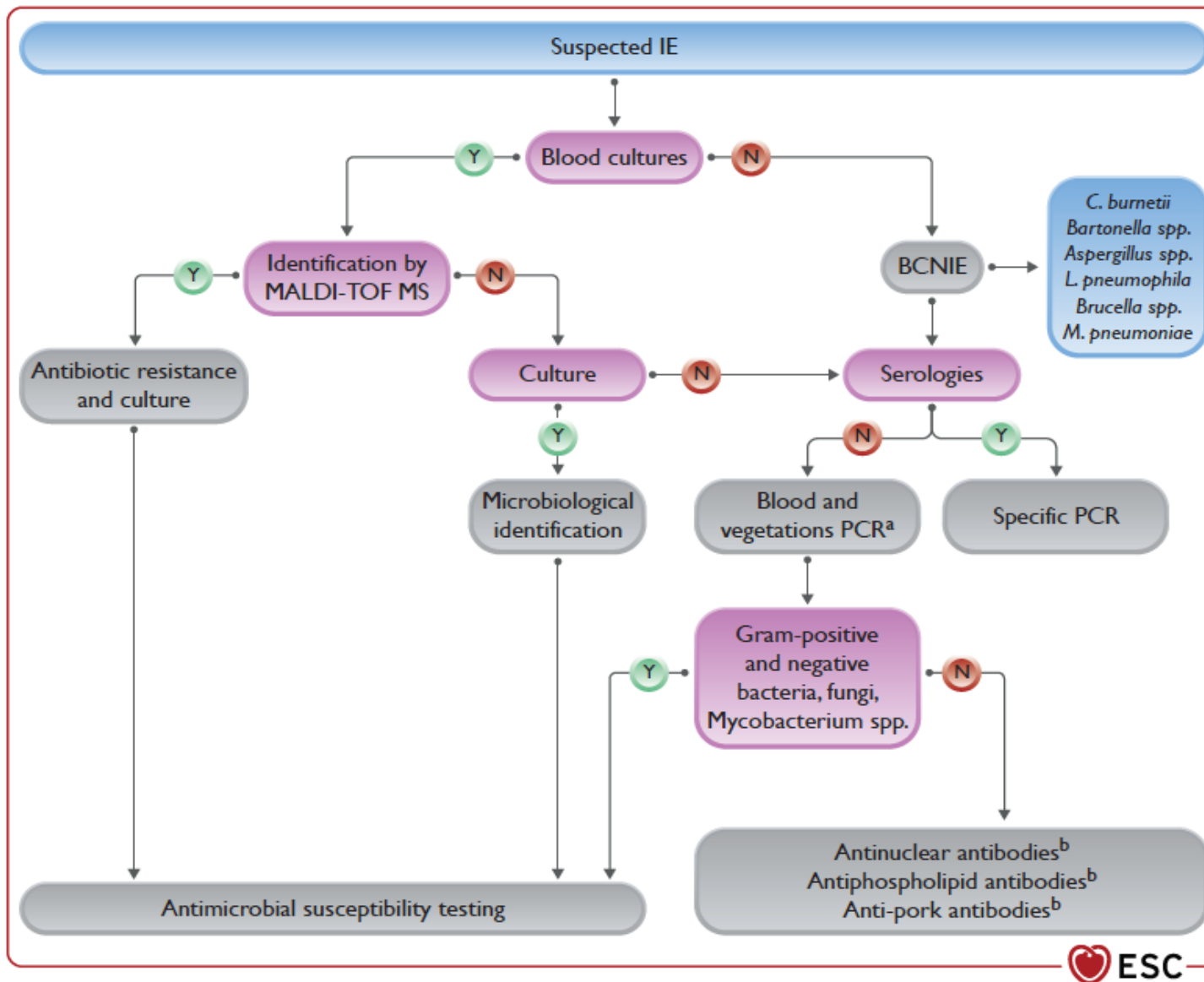


Figure 4 Microbiological diagnostic algorithm in culture-positive and culture-negative infective endocarditis. BCNIE, blood cultures negative endocarditis; IE, infective endocarditis; MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; PCR, polymerase chain reaction. ^aQualified microbiological laboratory. ^bImmunological laboratory.

Secuenciación ARNr 16S proporciona un diagnóstico microbiológico en BCNIE

Clinical Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



e1484 • CID 2023:76 (1 February) •

Molecular Analysis With 16S rRNA PCR/Sanger Sequencing and Molecular Antibioqram Performed on DNA Extracted From Valve Improve Diagnosis and Targeted Therapy of Infective Endocarditis: A Prospective Study

Alessandra Mularoni,^{1,4} Malgorzata Mikulska,^{2,3,6} Floriana Barbera,⁴ Elena Graziano,^{1,5} Alice Annalisa Medaglia,⁶ Daniele Di Carlo,⁴ Francesco Monaco,⁴ Diego Bellavia,⁷ Antonio Cascio,⁷ Giuseppe Raffa,⁷ Sergio Sciacca,⁷ Angelo Luca,⁷ Michele Pilato,⁷ and Pier Giulio Conaldi¹⁰

- Sec. ARNr 16S Sanger vs. cultivo convencional.
- Hemocultivo +, cultivo válvula +, y sec.+ : 55%, 22%, y 88%.
- En 92% de casos BCNIE, se identificó un patógeno mediante sec. de la válvula que permitió ajustar pauta ATB.



Pathogens 2022, 11, 34.



Article

What Does 16S rRNA Gene-Targeted Next Generation Sequencing Contribute to the Study of Infective Endocarditis in Heart-Valve Tissue?

Paula Santibáñez¹, Concepción García-García¹, Aránzazu Portillo^{1,*}, Sonia Santibáñez¹, Lara García-Álvarez¹, María de Toro² and José A. Oteo¹

- Sec. ARNr 16S Illumina vs. cultivo convencional.
- Sec. permitió identificar coinfecciones (respaldadas por datos clínicos).

Cheng et al. Ann Clin Microbiol Antimicrob (2018) 17:43
https://doi.org/10.1186/s12941-018-0294-5

Annals of Clinical Microbiology
and Antimicrobials

RESEARCH

Open Access



Identification of pathogens in culture-negative infective endocarditis cases by metagenomic analysis

Jun Cheng¹, Huan Hu^{1,2†}, Yue Kang^{2†}, Weizhi Chen², Wei Fang², Kaijuan Wang¹, Qian Zhang³, Aisi Fu⁴, Shuilian Zhou², Chen Cheng², Qingqing Cao², Feiyan Wang^{1*}, Shela Lee^{2*} and Zhou Zhou^{1*}

- Shotgun sequencing vs. cultivo convencional.
- Reconstrucción genomas completos bacterianos: identificación + resistencias.



Journal of
Clinical Microbiology®

BACTERIOLOGY

August 2023 Volume 61 Issue 8



16S rRNA Gene PCR/Sequencing of Heart Valves for Diagnosis of Infective Endocarditis in Routine Clinical Practice

Hyo-Lim Hong,^{a,b} Laure Flurin,^{a,c} Kerry E. Greenwood-Quaintance,^a Matthew J. Wolf,^a Bobbi S. Pritt,^{a,d} Andrew P. Norman,^{a,e} Robin Patel^{a,d}

- Sec. ARNr 16S Sanger/Illumina vs. cultivo convencional.
- 61% de casos BCNIE: patógeno identificado mediante sec. de la válvula.

No existen publicaciones basadas en sec. ARNr 16S mediante la tecnología de nanoporos (3ª generación)

Incorporación de la secuenciación en los criterios de Duke-ISCVID 2023

Clinical Infectious Diseases

VIEWPOINTS



The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria

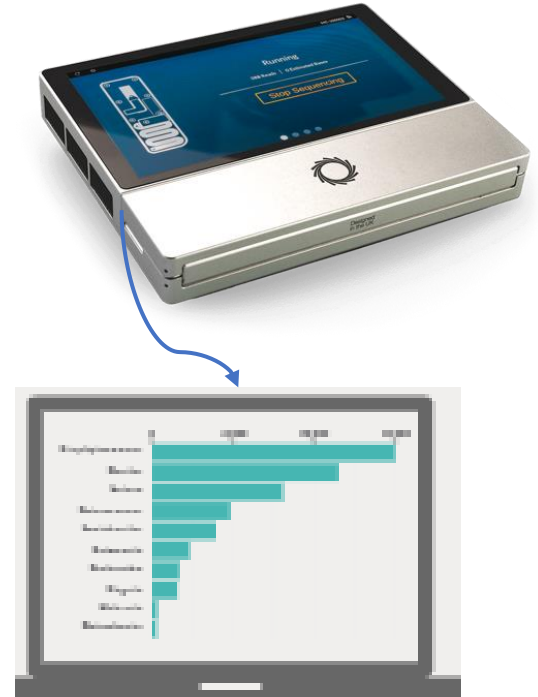
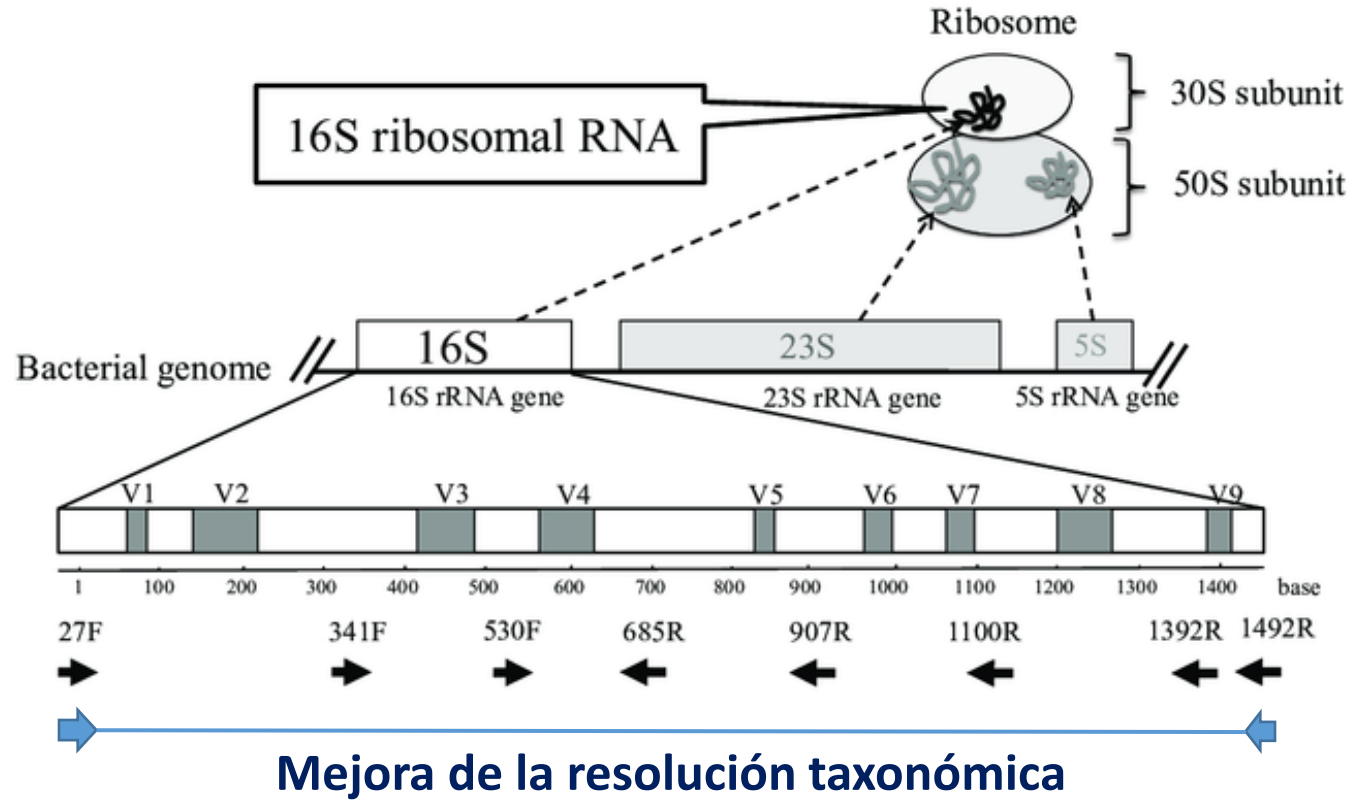
Vance G. Fowler Jr,^{1,2,9} David T. Durack,¹ Christine Selton-Suty,³ Eugene Athan,⁴ Arnold S. Bayer,^{5,6} Anna Lisa Chamis,¹ Anders Dahl,⁷ Louis DiBernardo,¹ Emanuele Durante-Mangoni,⁸ Xavier Duval,⁷ Claudio Querido Fortes,¹⁰ Emil Fosbol,¹¹ Margaret M. Hannan,¹² Barbara Hasse,¹³ Bruno Hoen,¹⁴ Adolf W. Karchmer,¹⁵ Carlos A. Mestres,¹⁶ Cathy A. Petti,^{1,11} Maria Nazarena Pizzi,¹⁸ Stephen D. Preston,¹⁹ Albert Roque,²⁰ Francois Vandenesch,^{21,22} Jan T. M. van der Meer,²³ Thomas W. van der Vaart,²³ and Jose M. Miro^{24,25}

Table 1. Definitions of Infective Endocarditis According to the 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Infective Endocarditis (IE) Criteria, With Proposed Changes in Bold Type

I. DEFINITE ENDOCARDITIS	
A. Pathologic Criteria	
(1)	Microorganisms identified^a in the context of clinical signs of active endocarditis in a vegetation; from cardiac tissue; from an explanted prosthetic valve or sewing ring; from an ascending aortic graft (with concomitant evidence of valve involvement); from an endovascular intracardiac implantable electronic device (CIED); or from an arterial embolus
or	
(2)	Active endocarditis^b (may be acute^c or subacute/chronic^d) identified in or on a vegetation; from cardiac tissue; from an explanted prosthetic valve or sewing ring; from an ascending aortic graft (with concomitant evidence of valve involvement); from a CIED; or from an arterial embolus
B. Clinical Criteria	
(1)	2 Major Criteria
or	
(2)	1 Major Criterion and 3 Minor Criteria
or	
(3)	5 Minor Criteria
II. POSSIBLE ENDOCARDITIS	
A.	1 Major Criterion And 1 Minor Criterion
or	
B.	3 Minor Criteria
III. REJECTED ENDOCARDITIS	
A.	Firm alternate diagnosis explaining signs/symptoms ^a
or	
B.	Lack of recurrence despite antibiotic therapy for less than 4 d.
or	
C.	No pathologic or macroscopic evidence of IE at surgery or autopsy, with antibiotic therapy for less than 4 d
or	
D.	Does not meet criteria for possible IE, as above

^aBy culture, staining, immunologic techniques, polymerase chain reaction (PCR), or other nucleic acid-based tests including amplicon (16S, 18S, internal transcribed spacers) sequencing, metagenomic (shotgun) sequencing, or in situ hybridization on fresh or paraffin-fixed tissue. Molecular techniques and tissue staining (Gram stain, periodic acid-Schiff with diastase, Grocott, or silver stains such as Warthin-Starry, Steiner, or Dieterle) should be interpreted cautiously, particularly in patients with a prior episode of IE because such tests can remain positive for extended periods following successful treatment. Antibiotic therapy before tissue procurement may also significantly alter microorganism morphology and staining characteristics. Test specificity is influenced by several factors, and false positives can occur. Test interpretation should always be in the context of clinical and histological evidence of active endocarditis. A single finding of a skin bacterium by PCR on a valve or wire without additional clinical or microbiological supporting evidence should be regarded as Minor Criterion and not Definite IE [5].

Amplificación y secuenciación por nanoporos del gen ARNr 16S completo



Objetivo: Validar e implementar la secuenciación masiva de lecturas largas para una rápida identificación de especies bacterianas que causan Endocarditis Infecciosa.

Muestras incluidas y análisis

- **N=31 muestras congeladas de biopsia o prótesis cardiacas de pacientes con Endocarditis Infecciosa:**

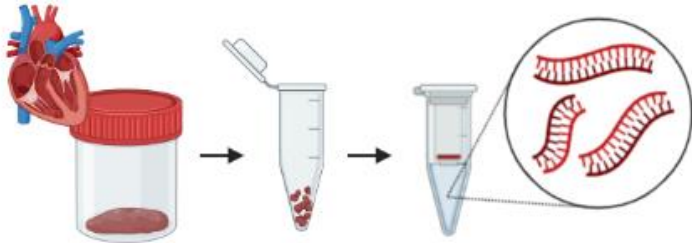
	Hemocultivo + Cultivo +	Hemocultivo - Cultivo +	Hemocultivo + Cultivo -	Hemocultivo - Cultivo -	Total
Retrospectivas (19 biopsias, 6 prótesis)	7	3	12	3	25
Prospectivas* (5 biopsias, 1 prótesis)	3	0	0	3	6

**Desde finales de 2022*

- **Método de referencia:** cultivo convencional (hemocultivo y cultivo del tejido o sonicado) e identificación del aislado con MALDI biotyper (Bruker Daltonics).
- **Concordancia entre el cultivo convencional y la secuenciación** a nivel de género y especie.

Amplificación y secuenciación por nanoporos del gen ARNr 16S completo

Extracción del DNA



50 mg tejido / 1 mL sonicated prótesis
Adición control negativo extracción

QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN)

4h

CAUTION

Amplificación del gen ARNr 16S, y preparación de librerías

1. PCR con *primers* 16S + índices



2. Adición adaptadores de secuenciación

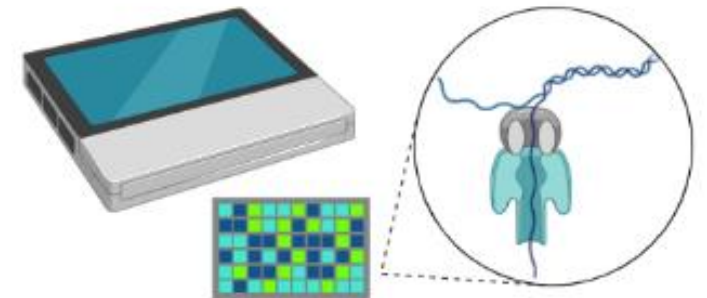


Adición control positivo librerías

16S Barcoding Kit
(Oxford Nanopore Technologies; ONT)

3h

Pooling de librerías, secuenciación por nanoporos, e interpretación de resultados



Secuenciador MinION Mk 1C (ONT)

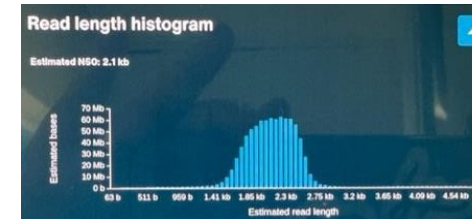
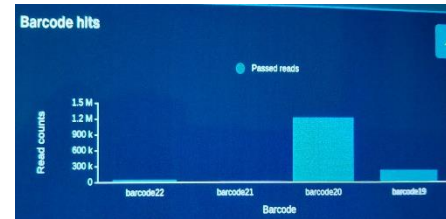
2h o overnight



Tiempo de respuesta → Secuenciación: 1-3 d vs. Cultivo convencional: 1-9 d

Monitorización e interpretación de los resultados de secuenciación en tiempo real

- Monitorización a tiempo real del número y calidad de las lecturas en el secuenciador



- Clasificación de las lecturas bacterianas en tiempo real con la herramienta online EPI2ME 16S (ONT):

Identificación válida si ≥ 10 lecturas/asignación y $\geq 3\%$ del total de lecturas.

- Pipeline bioinformático EMU (Curry KD. *et al.*, Nature Methods 2022):

Se utilizó para tomar una decisión cuando EPI2ME identificó varias especies del mismo género.

Taxon	Cumulative Reads
Streptococcus equi	37,708
Streptococcus salivixodontae	59
Streptococcus anginosus	10
Streptococcus uberis	9
Streptococcus pasteurianus	6
Streptococcus macedonicus	6
Streptococcus loxodontisalivarius	4
Streptococcus lutetiensis	3
Streptococcus intermedius	2
Streptococcus devriesei	2
Streptococcus equinus	2
Streptococcus iniae	2

Cultivo convencional vs. Secuenciación ARNr 16S en muestras retrospectivas

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=7)	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sí	100% (7/7) género
	2	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
	5	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis (S. lutetiensis) + Enterococcus faecalis</i>	Sí*	
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	
	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	
	9	<i>Streptococcus anginosus + Granulicatella spp.</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>S. anginosus group + Granulicatella spp.</i>	Parcial	
	10	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
Hemocultivo - Cultivo + (n=3)	3	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	86,7% (13/15) género y especie
	4	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	6	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	No	
Hemocultivo + Cultivo - (n=12)	11	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	12	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Sí	
	13	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Sí*	
	14	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí*	
	18	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	20	<i>Streptococcus salivarius</i>	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí	
	21	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	25	<i>Cutibacterium acnés</i>	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Sí	
	27	<i>Streptococcus mitis</i>	Negativo	<i>Streptococcus mitis</i>	Sí	
	28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	29	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	Negativo	No	
	30	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus mitis y Streptococcus gwangjuense</i>	Sí*	
Hemocultivo - Cultivo - (n=3)	22	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	100% (3/3)
	23	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	
	26	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	

*SÍ + Información adicional obtenida por secuenciación

Cultivo convencional vs. Secuenciación ARNr 16S en muestras retrospectivas

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=7)	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sí	100% (7/7) género
	2	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
	5	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis (S. lutetiensis) + Enterococcus faecalis</i>	Sí*	
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	
	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	
	9	<i>Streptococcus anginosus + Granulicatella spp.</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>S. anginosus group + Granulicatella spp.</i>	Parcial	
	10	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
Hemocultivo - Cultivo + (n=3)	3	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	86,7% (13/15) género y especie
	4	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	6	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	No	
Hemocultivo + Cultivo - (n=12)	11	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	12	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Sí	
	13	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Sí*	
	14	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí*	
	18	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	20	<i>Streptococcus salivarius</i>	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí	
	21	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	25	<i>Cutibacterium acnés</i>	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Sí	
	27	<i>Streptococcus mitis</i>	Negativo	<i>Streptococcus mitis</i>	Sí	
	28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	29	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	Negativo	No	
	30	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus mitis y Streptococcus gwangjuense</i>	Sí*	
Hemocultivo - Cultivo - (n=3)	22	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	100% (3/3)
	23	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	
	26	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	

*Sí + Información adicional obtenida por secuenciación

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=7)	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sí	100% (7/7) género
	2	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
	5	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis (S. lutetiensis) + Enterococcus faecalis</i>	Sí*	
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	
	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	
	9	<i>Streptococcus anginosus + Granulicatella spp.</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>S. anginosus group + Granulicatella spp.</i>	Parcial	
	10	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
Cultivo + (n=3)	4	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	86,7% (13/15) género y especie
	6	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	No	
Hemocultivo + Cultivo - (n=12)	11	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	12	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Sí	
	13	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Sí*	
	14	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí*	
	18	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	20	<i>Streptococcus salivarius</i>	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí	
	21	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	25	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Sí	
	27	<i>Streptococcus mitis</i>	Negativo	<i>Streptococcus mitis</i>	Sí	
	28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
29	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	Negativo	No		
30	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus mitis y Streptococcus gwangjuense</i>	Sí*		
Hemocultivo - Cultivo - (n=3)	22	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	
	23	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	
	26	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	

*Sí + Información adicional obtenida por secuenciación

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=7)	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sí	100% (7/7) género
	2	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
	5	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis (S. lutetiensis) + Enterococcus faecalis</i>	Sí*	
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	
	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	
	9	<i>Streptococcus anginosus + Granulicatella spp.</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>S. anginosus group + Granulicatella spp.</i>	Parcial	
	10	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
85,7% (6/7) especie						
Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo - Cultivo + (n=3)	3	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	86,7% (13/15) género y especie
	4	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	6	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	No	
Hemocultivo + Cultivo - (n=12)	11	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	12	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Sí	
	13	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Sí*	
	14	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí*	
	18	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	20	<i>Streptococcus salivarius</i>	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí	
	21	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	25	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Sí	
	27	<i>Streptococcus mitis</i>	Negativo	<i>Streptococcus mitis</i>	Sí	
	28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	29	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	Negativo	No	
	30	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus mitis y Streptococcus gwangjuense</i>	Sí*	
Cultivo - (n=3)	23	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	100% (3/3)
	26	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	

*Sí + Información adicional obtenida por secuenciación

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=7)	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sí	100% (7/7) género
	2	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
	5	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus bovis (S. lutetiensis) + Enterococcus faecalis</i>	Sí*	
	7	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	
	8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	
	9	<i>Streptococcus anginosus + Granulicatella spp.</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>S. anginosus group + Granulicatella spp.</i>	Parcial	
	10	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus equi</i>	Sí	
Hemocultivo - Cultivo + (n=3)	3	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus gallolyticus (S. pasteurianus)</i>	Sí*	86,7% (13/15) género y especie
	4	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	6	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	No	
Hemocultivo + Cultivo - (n=12)	11	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	12	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Negativo	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	Sí	
	13	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Sí*	
	14	Estreptococo del grupo viridans	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí*	
	18	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	20	<i>Streptococcus salivarius</i>	Negativo	<i>Streptococcus salivarius</i>	Sí	
	21	<i>Streptococcus mutans</i>	Negativo	<i>Streptococcus mutans</i>	Sí	
	25	<i>Cutibacterium acnes</i>	Negativo	<i>Cutibacterium acnes</i>	Sí	
	27	<i>Streptococcus mitis</i>	Negativo	<i>Streptococcus mitis</i>	Sí	
	28	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sí	
	29	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativo	Negativo	No	
	Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	
Hemocultivo - Cultivo - (n=3)	22	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	100% (3/3)
	23	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	
	26	Negativo	Negativo	Negativo	Sí	

Cultivo convencional vs. Secuenciación ARNr 16S en muestras prospectivas

Clasificación	ID	Hemocultivo	Cultivo	Secuenciación ARNr 16S	Concordancia	%
Hemocultivo + Cultivo + (n=3)	32	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	100% (3/3) género 66,7% (2/3) especie
	35	<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Granulicatella elegans</i>	Parcial	
	37	<i>Aerococcus urinae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	Sí	
Hemocultivo - Cultivo - (n=3)	15	Negativo	Negativo	<i>Mycoplasma hominis</i> [†]	No*	0%
	19	Negativo	Negativo	<i>Streptococcus pneumoniae</i> [‡]	No*	
	33	Negativo	Negativo	<i>Coxiella burnetii</i> [†]	No*	

*No + Información adicional obtenida por secuenciación; [†]Microorganismo no cultivable; [‡]Tto antibiótico en curso por neumonía.

Los resultados se informaron inmediatamente y se adecuó la terapia antimicrobiana

La secuenciación completa del gen ARNr 16S mediante la metodología de ONT es un método sensible para la identificación bacteriana en biopsias y prótesis cardiacas con un tiempo de respuesta rápido, y complementa el diagnóstico convencional especialmente en los casos con cultivo negativo.

Agradecimientos

Servicio de Microbiología

Servicio de Cardiología

- **Secuenciación** -
S. Martínez-Puchol
A. Coello
A.E. Bordoy
L. Soler
S. González-Gómez
O. Pérez
A. París
N. Mauri
E. Martró

P.J. Cardona, M. Giménez



- **Bacteriología**
Inf. Sistémica y Nosocomial -
S. Molinos
M^a Dolores Quesada
Alba Llop
J. Moreno

N. Vallejo

Servicio de Cirugía Cardiovascular

E. Berastegui

Servicio de Enfermedades Infecciosas

L. Mateu



¡Muchas gracias por vuestra atención!

smolinos.germanstrias@gencat.cat

 @sonieta_molinos

vsaludesm.germanstrias@gencat.cat

 @SaludesVeronica

