

Discusión de casos clínicos en virología y micología

John Griffis¹, Diana Meza Villegas¹

¹ Mayo Clinic. Jacksonville. Florida, Estados Unidos.

Memorias en presentación de PowerPoint.



Mayo Clinic Florida Microbiology Virology and Mycology Highlight

Diana Meza Villegas, Lauren Frank, Matt Griffis, Samuel Gasson

Internacional en Microbiología clínica y Enfermedades Infecciosas
11/1/2022



Symposium Presenters, L to R: Matt Griffis, Diana Meza Villegas, Lauren Frank, Samuel Gasson



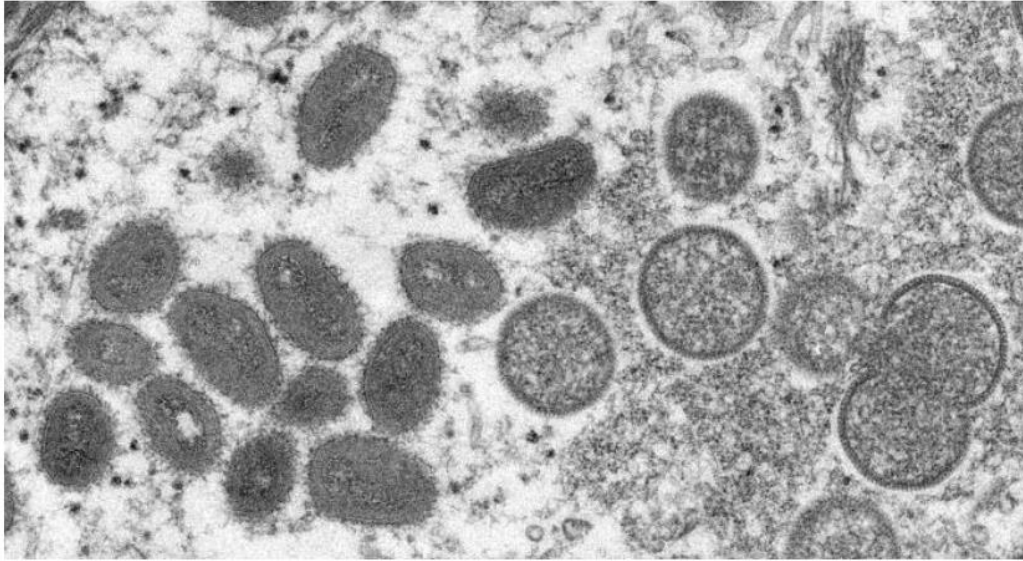
©2013 MFMR | slide 2

Mayo Clinic Locations



©2013 MFMR | slide 3

Virology



Monkeypox virus particles – electron microscopy

PCR – Polymerase Chain Reaction

- Extraction/Denaturation
- Hybridization
- Extension
- Detection

PCR – Extraction/Denaturation

- Nucleic acids are extracted from samples
 - Heat, chemicals, or enzymes
- Nucleic acids must be single stranded for PCR
 - Accomplished by denaturation
 - Heated to 94° C
 - Break Hydrogen bonds between base pairs
- Ready for the next step



©2013 MFMER | slide-6

PCR – Hybridization

- Primers hybridize to a specific nucleic acid target
- Primers can be designed for many pathogens and resistance genes
- 50-58° C or higher



©2013 MFMER | slide-7

PCR – Extension

- Taq polymerase: enzyme used for primer extension
- 72° C
- Process is repeated for 25-45 cycles
 - Amplification results in 10^6 - 10^8 copies
 - Amplicon



©2013 MFMR | slide 6

PCR – Detection / Instrumentation

- Cepheid GeneXpert & Infinity
- BioFire Torch
- cobas 6800
- cobas Liat
- MagNA Pure / LightCycler 2.0



©2013 MFMR | slide 6

Cepheid GeneXpert & Infinity



Photos courtesy of Cepheid

©2013 MFMR | slide-10

Cepheid GeneXpert & Infinity

- 16 - 48 Modules
- SARS-CoV-2
- Influenza A/B
- RSV
- C. diff
- MRSA
- < 1 H TAT
 - MRSA = 1.25 H TAT



©2013 MFMR | slide-11

BioFire Torch



- 4 Modules
- Gastrointestinal Panel
 - 22 targets
- Respiratory Panel
 - 22 targets
- ~ 1 H TAT



Photo courtesy of BioFire Diagnostics

©2013 MFMR | slide-12

cobas 6800



- SARS-CoV-2
- Influenza A/B
- HIV
- HCV
- CMV
- BK
- EBV
- HPV
- HBV



Photo courtesy of Roche Diagnostics

©2013 MFMR | slide-13

cobas 6800



- 3 H TAT
- Fully automated PCR
- Processes 96 Tests per batch



Photo courtesy of Roche Diagnostics

©2013 MFMR | slide-14

cobas Liat



- 20 min TAT
- SARS-CoV-2
- Influenza A/B
- RSV



Photo courtesy of Roche Diagnostics

©2013 MFMR | slide-15

MagNA Pure 2.0



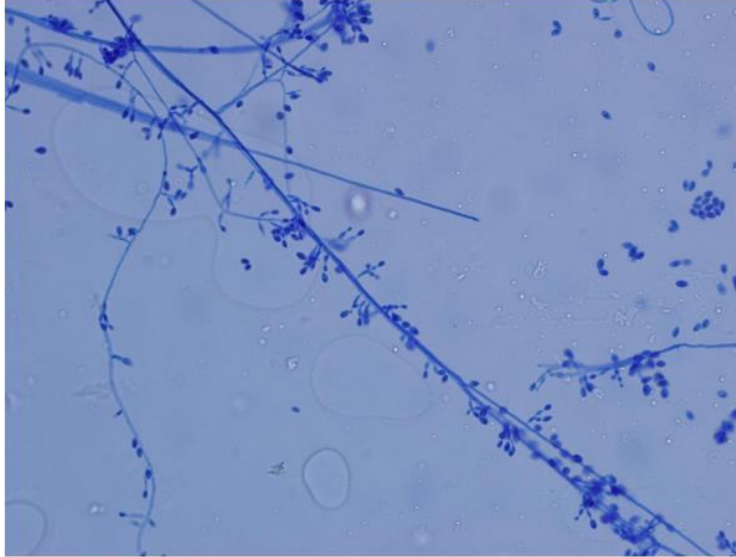
- Extract 32 Samples
- 1.5 H max extraction time
- Pure viral extract remains
- Transferred to the LightCycler 2.0 for Amplification and Detection

LightCycler 2.0



- Amplification of 32 samples
- 1.5 H / 45 Cycles
- HSV 1 / 2
- CMV
- VZV
- EBV
- BK
- JC
- KPC / NDM

Mycology

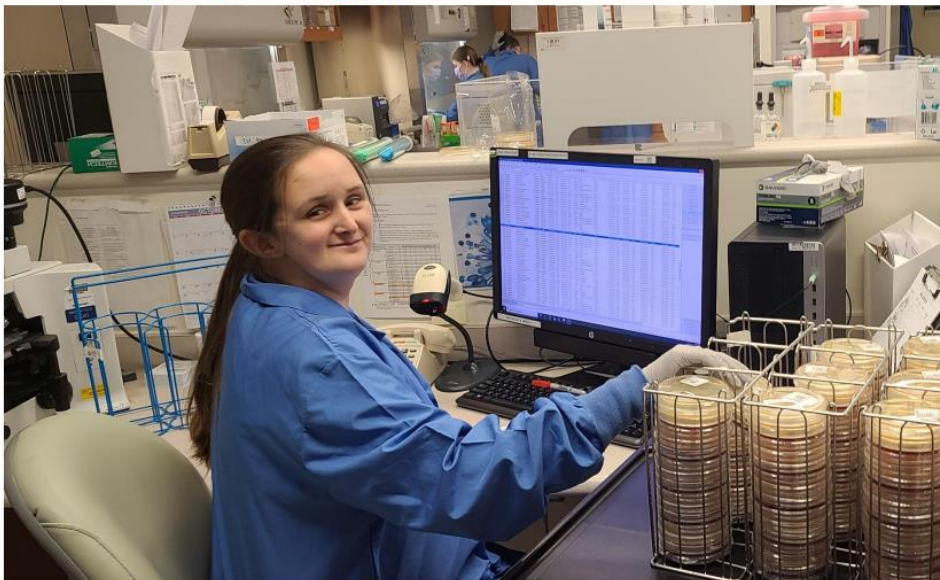


Lomentospora prolificans



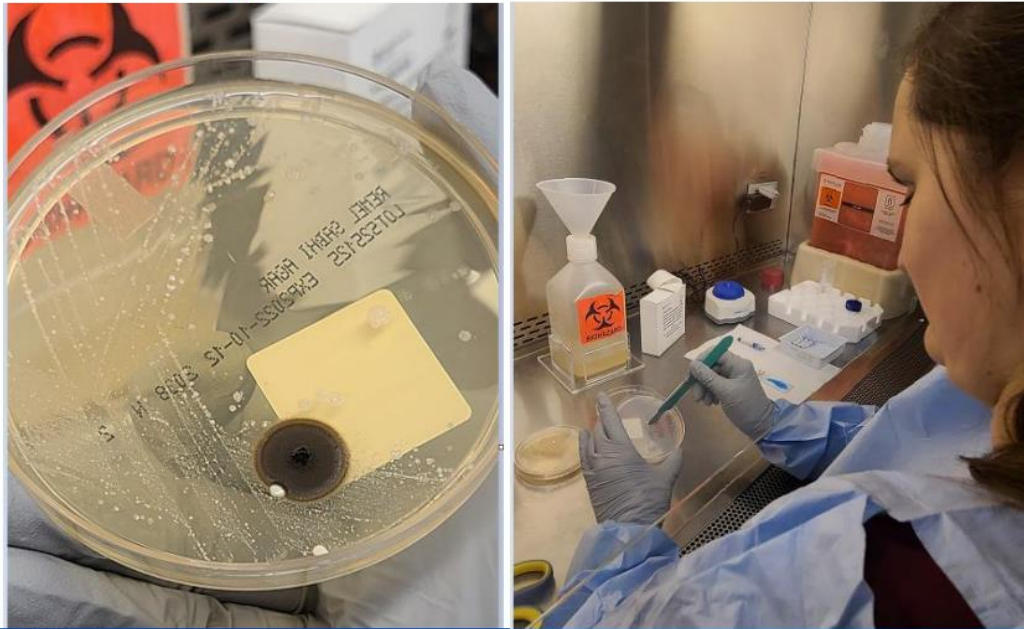
©2013 MFMR | slide-18

Sorting Mycology plates



©2013 MFMR | slide-19

Morphologies



MALDI-TOF



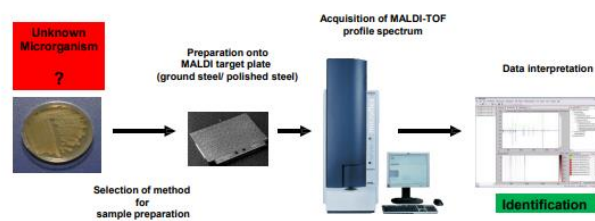
Microbiology Lab - MCF



©2013 MPMER | slide-22

MALDI-TOF MS microorganism identification

MALDI Biotyper workflow



time to result for one sample: ~ 10 min



Available from M. Kostrzewa



©2013 MPMER | slide-23

MALDI-TOF MS (MALDI Biotyper) microorganism identification – meaning of scores

Charge by Matrix HCCA → α -cyano-4- hydroxycinnamic acid
Positive control → BTS [Bacterial Test Standard, *E. coli*]

Range	Description	Symbols	Color
2,300 ... 3,000	highly probable species identification	(+++)	green
2,000 ... 2,299	secure genus identification, probable species identification	(++)	green
1,700 ... 1,999	probable genus identification	(+)	yellow
0,000 ... 1,699	no reliable identification	(-)	red

Range	Interpretation	Color
2.00 - 3.00	High Confidence Identification	Green
1.70 - 1.99	Low Confidence Identification 1. If this log(score) is obtained on a direct transfer, follow with extraction preparation [see User Manual] 2. If this log(score) is obtained on an extracted test organism, report sample as "Low Confidence Identification"	Yellow
< 1.70	No Organism Identification Possible [refer to troubleshooting section in User Manual] 1. If this log(score) is obtained on a direct transfer, follow with extraction preparation [see User Manual] 2. If this log(score) is obtained on an extracted test organism, report sample as "No Identification"	Red



©2013 MPMER | slide 24



Questions & Discussion

©2013 MPMER | slide 25



Inusitada infección en un paciente inmunocomprometido

Diana M. Meza Villegas MS, SM (ASCP) ^{CM} MLS

Instructor in Laboratory Med/Pathology

Microbiology Laboratory

Department of Laboratory Medicine & Pathology

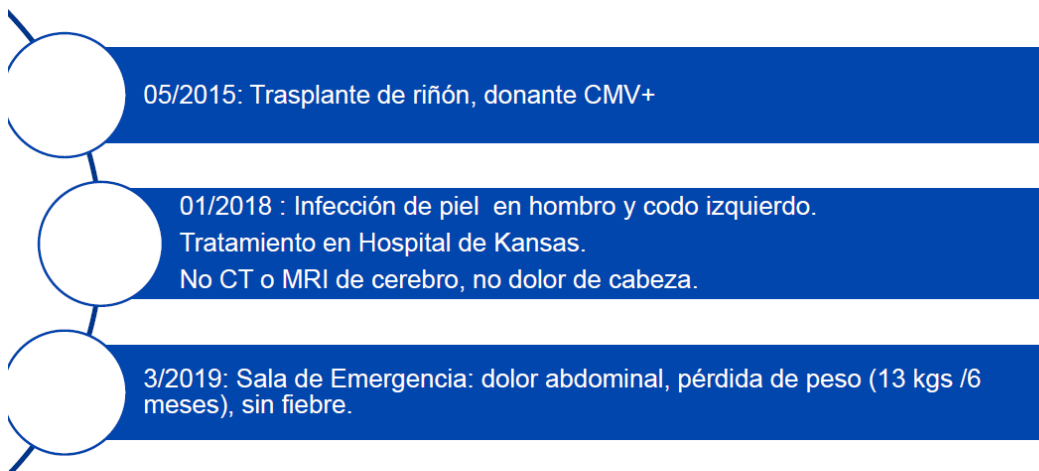
Mayo Clinic Florida

meza.diana@mayo.edu

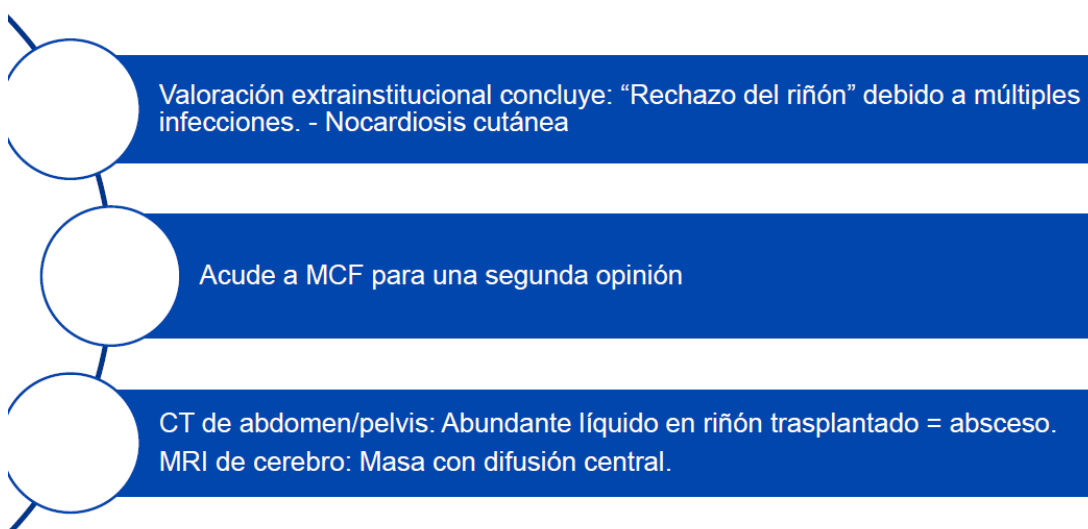


Presentación del caso

♂ Hombre, 34 años afroamericano, CMV +



Presentación del caso



Procedimientos

1-Líquido Perinefrítico

Tinción Hongos:
"elementos fúngicos".

Tinción de Gram:
positivo para
leucocitos (PMN) y
elementos fúngicos.

2-Craneotomía derecha

Absceso intracraneal.

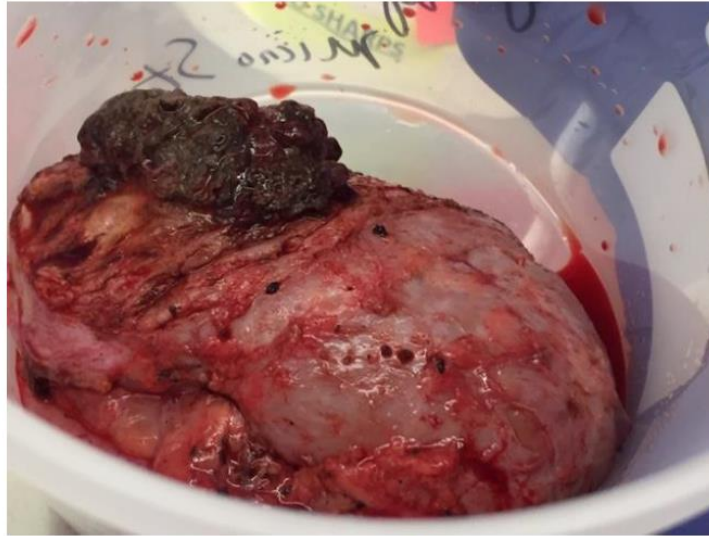
Fluido enviado al
Laboratorio de
Microbiología para
tinciones y cultivo.

Tinción de Gram:
*"Bacilos gram positivos
ramificados"*.

Nefrectomía

- El riñón fue removido y se observó la presencia de gránulos.
- Posteriormente fue enviado al Laboratorio de Microbiología para tinción y cultivo

Nefrectomía-Rechazo

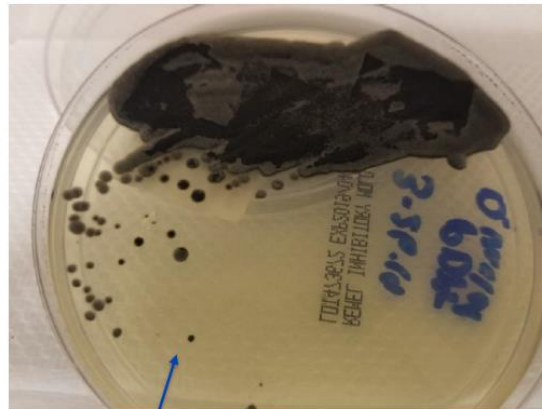


Microbiology Lab - MCF

Cual cree usted que es el patógeno causante de la infección?

1. Bacterias aeróbicas y/o anaeróbicas
2. Mycobacterias y Actinomicetos
3. Levaduras/Hongos Filamentosos

Cultivo después de 1 semana
de incubación a 30 °C



Hongo Dermatiáceo

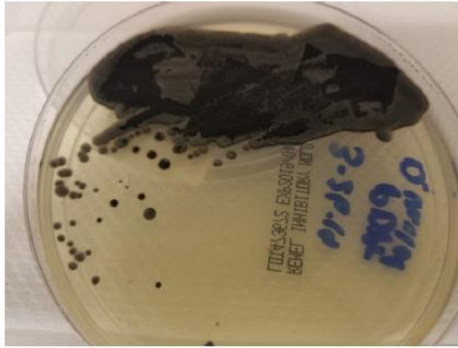
Cual de los siguientes hongos
filamentosos cree usted que es el
responsable de la infección?

- Phialophora sp.
- Phaeoacremonium sp.
- Cladophialophora sp.
- Rhinocladiella sp.

Cladophiala bantiana

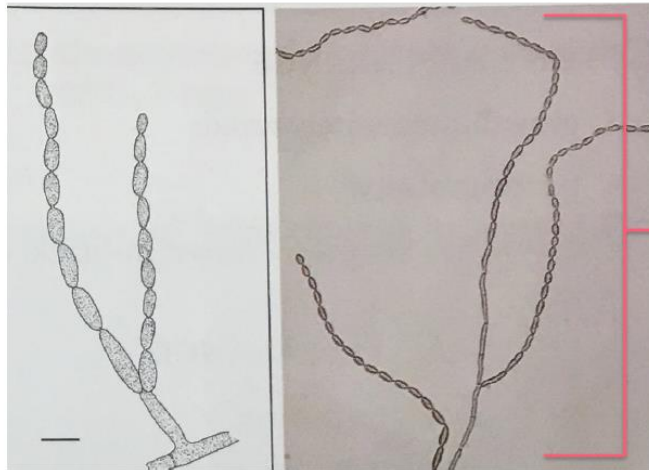
Macroscópicamente:

Colonias atercopeladas/gris-negro
crecieron a 37°C y 40°C/2 semanas.



Microbiology Lab- MCF

Cladophiala bantiana



Cadenas
largas de
conidia

Image from *Identifying Fungi: a Clinical Laboratory Handbook*.

Cladophialophora bantiana

- **Test adicional**
 - Urea Positivo para todo el género *Cladophialophora*.



Cladophialophora bantiana

- Previamente conocida como: *Torula bantiana*, *Cladosporium bantianum*, *Xylohypha bantiana*, *Cladosporium trichoides*, *Cladosporium trichoides* var. *Clamydosporium* y *Xylohyphaemmonsii*.
- *C. bantiana* es un hongo saprófito, suelo y plantas.
- Alto grado de patogenicidad. Manipular este hongo en BSC-3.
- No se recomienda cultivo en lámina.

Cladophialophora bantiana

Transmisión

- Exposición al suelo y plantas llevan a infección en senos paranasales, infección pulmonar, infección subcutánea debido a inoculación traumática.
- Distribución : Mundial, más frecuente en India
- Causante de numerosos casos de **faehifomicosis cerebral**
- La infección se presenta predominantemente en “pacientes sometidos a trasplantes “

*Por qué *Cladophialophora bantiana* es un hongo neurotrópico?*

- Sabemos que *Cladophialophora bantiana* es un hongo dermatiáceo.
- Algunos postulados sugieren, el dihidroxinaftaleno (**DHN**) es un pigmento melánico que contribuye al neurotropismo por unión de receptores específicos entre la sangre y la barrera cerebral, permitiendo acceso al parénquima.

No confundir con *Cladophialophora carrionii*

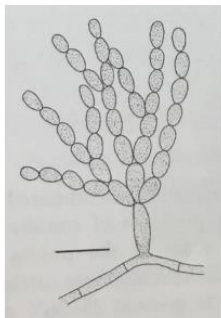
- Colonia similar a *C. bantiana*
- Colonias verde oliva /gris
- Crece at 37°C
- **No crece a 40°C**



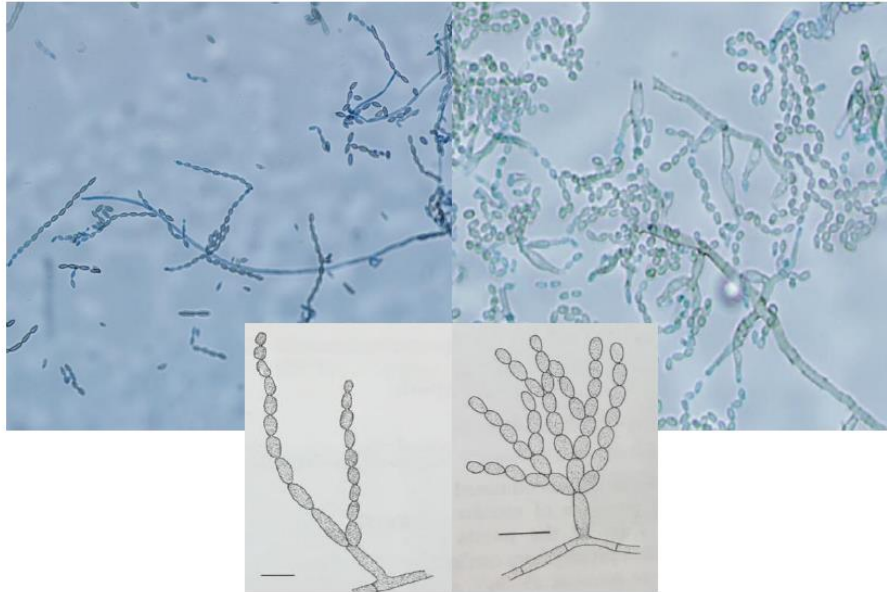
Microbiology Lab- MCF

Cladophialophora carrionii

- Conidia ramificada en cadenas



C. bantiana Vs C. carrionii



No confundir con *Cladosporium* sp.

- Se distingue por la presencia de conidióforos conocidos como “shield cells”.
- Cicatrices pigmentadas adheridas a los “shield cells”

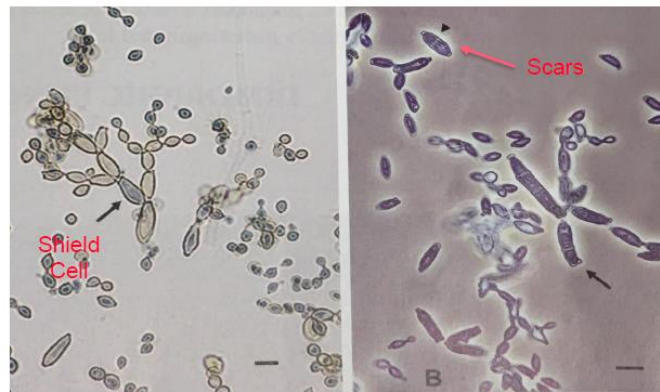
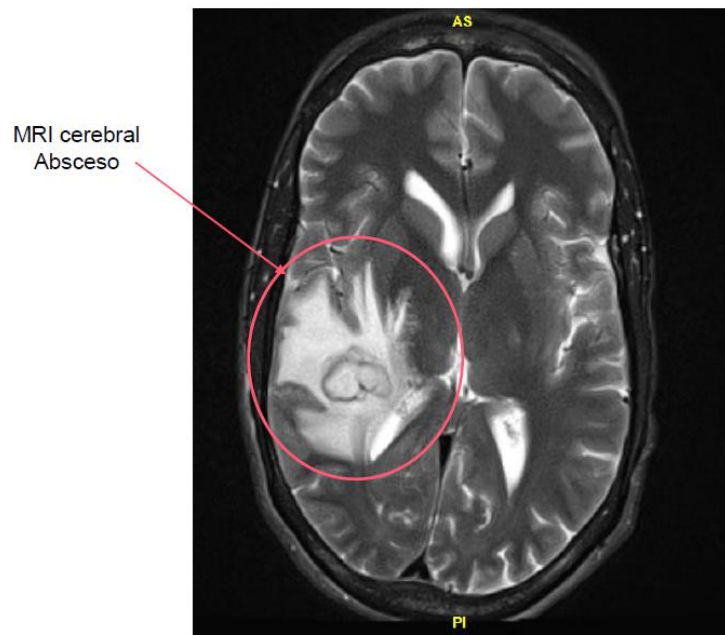
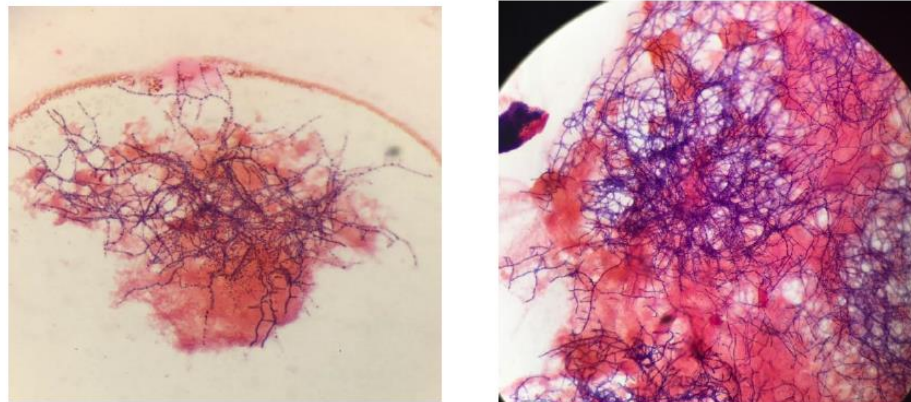


Image from *Identifying Fungi: a Clinical Laboratory Handbook*.

Craneotomia



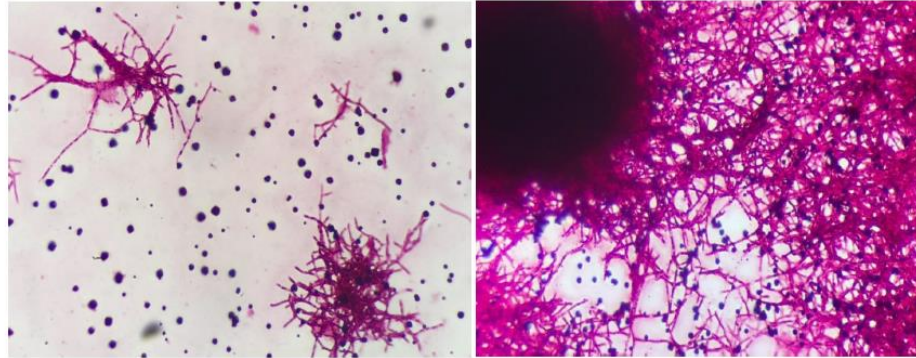
Tinción de Gram



Fluido cerebral: *Filamentos grampositivos, ramificados*

Fluido cerebral

Tinción Kinyoun Modificada positiva



Microbiology Lab- MCF



©2016 MFMR | slide-24

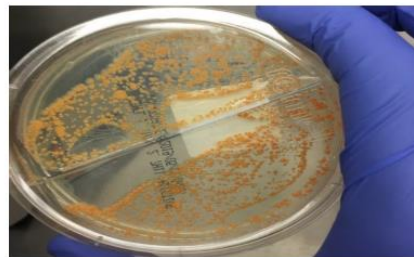
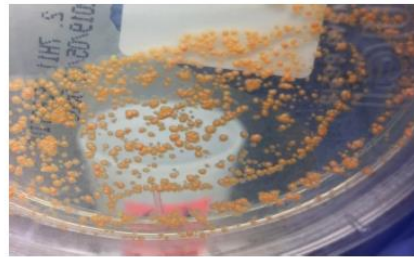
Cultivo del fluido cerebral

Cultivo para Mycobacterias:

Positivo para *Actinomiceto*:
Nocardia farcinica

Cultivo en medio líquido MGIT
reveló el mismo organismo

Colonias
naranja, secas,
rugosas



Microbiology Lab- MCF



©2016 MFMR | slide-25

Nocardia farcinica

- Común en personas con un sistema inmune debilitado.
- Se encuentra en el suelo, plantas descompuestas y aguas estancadas.
- *Nocardia sp.* es una rara causa de absceso cerebral (1-2%) de todos los casos.

Tratamiento

- Cresemba (Sulfato de Isavuconazol) hasta la admisión en el hospital
 - Antifúngico (azoles)
 - Indicado en pacientes mayores de 18 años de edad para el tratamiento de infecciones fúngicas invasivas.
- El Infectólogo sospechó resistencia a isavuconazol
 - Envío a Universidad de Texas.
 - Cambio tratamiento a Voriconazol oral.

Tratamiento

- 6 semanas de ambisome, meropenem, bactrim and doxycyclina oral.
- Suspendió terapia de inmunosupresión, excepto para bajas dosis de prednisona.

Conclusiones

- Receptores de trasplantes son de alto riesgo de desarrollar infecciones por microorganismos inusuales y alta patogenicidad
- Pacientes bajo severa inmunosupresión pueden presentar mas de una infección
- Infecciones debido a *Nocardia sp.* se presentan entre los primeros 3 años del trasplante



Mayo Clinic Florida