

This kind of vaccinia lesions have good prognosis although resolution is slow and a scar can persist. Treatment is usually symptomatic and the main aim is avoid complications as bacterial superinfections.

Authors' contributions

Every author contributed equally to the manuscript in redaction, writing, reviewing and submission.

Funding

This article didn't receive any funding.

Conflict of interest

The authors have declared no conflicts of interest.

Bibliografía

- Verardi PH, Titong A, Hagen CJ. A vaccinia virus renaissance: new vaccine and immunotherapeutic uses after smallpox eradication. *Hum Vaccin Immunother*. 2012;8:961–70. <http://dx.doi.org/10.4161/hv.21080>.
- Lu B, Cui LB, Gu MH, Shi C, Sun CW, Zhao KC, et al. Outbreak of vaccinia virus infection from occupational exposure China, 2017. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:1192–5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2506.171306>.

- Sepkowitz KA. How contagious is vaccinia? *N Engl J Med*. 2003;348:439–46. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMr022500>.
- Amanna IJ, Slifka MK, Crotty S. Immunity and immunological memory following smallpox vaccination. *Immunol Rev*. 2006;211:320–37. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2006.00392.x>.
- Petersen BW, Harms TJ, Reynolds MG, Harrison LH. Use of vaccinia virus smallpox vaccine in laboratory and health care personnel at risk for occupational exposure to orthopoxviruses – recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:257–62. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6510a2>.

Marta Arsuaga^{a,*}, Rocio Coloma^b, Susana Guerra^b,
Marta Díaz-Menéndez^a

^a National Referral Unit for Imported Tropical Diseases, Tropical and Travel Medicine Unit, Hospital La Paz-Carlos III, Madrid, Spain

^b Department of Preventive Medicine, Public Health and Microbiology, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, Spain

* Corresponding author.

E-mail address: marta.arsuaga@salud.madrid.org (M. Arsuaga).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2024.04.003>

0213-005X/ © 2024 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Uso de isavuconazol en la meningitis criptocócica de un paciente cirrótico



Use of isavuconazole in cryptococcal meningitis in a cirrhotic patient

La meningoencefalitis criptocócica (MC) es una enfermedad grave que ocasiona 181.100 muertes anuales en el mundo¹. Las principales especies causantes son *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*. Frecuentemente se asocia a infección por el VIH en situación de inmunodepresión avanzada o a otro tipo de inmunodeficiencias (trasplante de órgano sólido, neoplasias y pacientes en quimioterapia o con fármacos inmunosupresores); sin embargo, hasta el 20% de los casos ocurren en pacientes inmunocompetentes donde predominan las variedades *C. neoformans grubii* y *C. gattii*². Presentamos un caso autóctono de MC por *C. gattii* resistente a fluconazol con respuesta favorable a isavuconazol.

Varón de 59 años con antecedente de politoxicomanía, ictus isquémico con hemiparesia derecha y cirrosis Child-Pugh B por virus C con respuesta viral sostenida. Acudió al servicio de Urgencias por inestabilidad en la marcha, sensación de giro de objetos y fiebre de 3 semanas de evolución. En la exploración destacó supravversión de la mirada, con fondo de ojo sin edema papilar, no presentando alteraciones en el resto de la exploración física y neurológica.

Se realizó una TC craneal sin hallazgos y una punción lumbar (PL) con líquido cefalorraquídeo (LCR) turbio con presión normal y bioquímica sugestiva de meningitis bacteriana (glucosa 8 mg/dl, proteínas totales 383,7 mg/dl, leucocitos 8.297 células, 92% polimorfonucleares); en la tinción de Gram y en la tinta china se observaron levaduras compatibles con *Cryptococcus* spp. (fig. 1), confirmandose la detección de ADN para *C. gattii/neoformans* mediante una técnica molecular basada en ácidos nucleicos de PCR múltiple (Biomérieux, FilmArrayTM). En el cultivo se identificó *C.*

gattii. Los hemocultivos fueron negativos y el título basal del antígeno criptocócico en LCR (látex) fue > 1/10.000.

La resonancia magnética craneal mostró criptocomas cerebelosos. Se determinaron subclases de inmunoglobulinas, complemento, poblaciones linfocitarias, serología VIH y se descartaron neoplasias ocultas. En la TC se detectó esplenomegalia sin signos de hipertensión portal.



Figura 1. Estudio directo del LCR del paciente mediante técnica de tinta china en la que se observan estructuras levaduriformes con cápsula, algunas de ellas de gran tamaño (halo o aureola clara-transparente, con elemento central) sobre el fondo oscuro.

Para el tratamiento de la infección del sistema nervioso central (SNC) por *C. gattii* se extrapolaron datos sobre *C. neoformans*², y se optó por iniciar tratamiento, según las recomendaciones de la OMS³, con anfotericina B liposomal (AmB-L) 10 mg/kg en dosis única endovenosa + flucitosina (5-FC) 100 mg/kg/día oral en 4 dosis seguidas de fluconazol 1.200 mg vía oral cada 24 h durante 2 semanas.

Pese a este tratamiento, el paciente continuó con disminución del nivel de consciencia y persistió el crecimiento del hongo en los sucesivos cultivos del LCR. Finalmente, se cambió al esquema de la IDSA⁴ con AmB-L 3–4 mg/kg/día y 5-FC. Tras 6 semanas de tratamiento, la levadura continuó aislándose en el LCR con títulos de antígeno > 1/10.000, por lo que decidimos asociar un azol al régimen anterior.

En el Centro Nacional de Microbiología, utilizando el método de microdilución en caldo, las CMI de los diferentes azoles fueron: fluconazol > 4 µg/ml; voriconazol 2 µg/ml; isavuconazol 1 µg/ml.

La hepatopatía limitaba el uso de voriconazol, por su mejor perfil hepático y, basándonos en los datos de la literatura⁵, optamos por isavuconazol i.v. (IVZ) a 200 mg/8 h durante 48 h y 200 mg cada 24 h como mantenimiento.

Se determinaron, por cromatografía líquida con espectrometría de masas, niveles valle de isavuconazol tras 6 dosis, tanto en plasma como en LCR, siendo de 5 µg/ml y 0,66 µg/ml, respectivamente.

Tras 2 semanas con este régimen (AmB-L/5-FC/IVZ) se negativizaron los cultivos del LCR y el título del antígeno criptocócico descendió a 1/4.000 la primera semana y a 1/2.000 la segunda, lo que se asoció con una mejoría neurológica. Completó 6 semanas con este último esquema.

En España *C. gattii* se ha aislado como colonizador en árboles del litoral mediterráneo⁶ y se han descrito casos autóctonos en pacientes sin infección por el VIH⁷.

En la MC, tanto en pacientes inmunodeprimidos como en inmunocompetentes, el LCR muestra un recuento de glóbulos blancos inferior a 50 células/µL con predominio mononuclear, proteinorraquia leve y glucosa baja o normal. Por ello, nuestro caso tuvo una presentación atípica que obligó a considerar otras etiologías.

El tratamiento de la infección por *Cryptococcus* spp. se basa en el uso de polienos, azoles y análogos de nucleósidos (pirimidinas)¹. La experiencia clínica con otros azoles distintos al fluconazol es limitada. Se debe considerar una posible resistencia a los antifúngicos cuando no se consigue negativizar los cultivos de LCR. Para los aislados no identificados como *C. neoformans*, el CLSI define como punto de corte para fluconazol 16 µg/ml, clasificando como fenotipo no salvaje o con posibles mecanismos de resistencia las cepas con CMI > 16 µg/ml. Para *C. gattii* el EUCAST no ha propuesto puntos de corte para fluconazol, pero sí que los establece para anfotericina B (0,5 µg/ml) y posaconazol (1 µg/ml)⁸. En nuestro caso optamos por isavuconazol, frente a voriconazol o posaconazol, por su menor perfil de interacciones, menor toxicidad hepatorenal y buena difusión al SNC⁹. Existen ensayos que apoyan la eficacia de isavuconazol con una dosis de carga de 200 mg/8 h durante 2 días, seguido de 200 mg diarios como mantenimiento para la enfermedad pulmonar y meníngea¹⁰. Kohno et al. obtuvieron una tasa de respuesta con isavuconazol de hasta el 90%⁵. En nuestro caso, si bien la concentración plasmática de isavuconazol supera la CMI, en LCR fue inferior a la esperada y a la CMI de la levadura, lo que sugiere que la respuesta se debió a la combinación de antifúngicos.

Isavuconazol podría ser un azol seguro y eficaz como parte del esquema de tratamiento para la criptococosis cuando no fuera posible utilizar fluconazol o voriconazol.

Financiación

No se ha recibido financiación.

Autoría

Todos los autores han contribuido sustancialmente en cada uno de los siguientes aspectos: 1) la adquisición de datos, 2) la revisión crítica del contenido intelectual, 3) la aprobación definitiva de la versión que se presenta.

Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflicto de intereses que declarar.

Agradecimientos

Dr. Vicente Merino (Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla).

Dra. Maite Ruiz Pérez Pipaón (Unidad de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España).

Bibliografía

1. Iyer KR, Revie NM, Fu C, Robbins N, Cowen LE. Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19:454–66. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-021-00511-0>.
2. McHale TC, Boulware DR, Kasibante J, Ssebambulidde K, Skipper CP, Abassi M. Diagnosis and management of cryptococcal meningitis in HIV-infected adults. *Clin Microbiol Rev*. 2023;36:e0015622. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00156-22>.
3. Guidelines for diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV. Ginebra: World Health Organization; 2022. [consultado 8 Dic 2023]. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581832/>
4. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010;50:291–322. <http://dx.doi.org/10.1086/649858>.
5. Kohno S, Izumikawa K, Takazono T, Miyazaki T, Yoshida M, Kamei K, et al. Efficacy and safety of isavuconazole against deep-seated mycoses: A phase 3, randomized, open-label study in Japan. *J Infect Chemother*. 2023;29:163–70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2022.10.010>.
6. Cogliati M, D'Amicis R, Zani A, Montagna MT, Caggiano G, De Giglio O, et al. Environmental distribution of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* around the Mediterranean basin. *FEMS Yeast Res*. 2016;16:fow045. <http://dx.doi.org/10.1093/femsyr/fow045>.
7. Solla I, Morano LE, Vasallo F, Cuenca-Estrella M. Meningitis por *Cryptococcus gattii*: descripción de un caso autóctono en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26:395–6. <http://dx.doi.org/10.1157/13123846>.
8. Espinel-Ingroff A, Cantón E. Methods for antifungal susceptibility testing of the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* complex: strengths and limitations. *J Fungi (Basel)*. 2023;9:542. <http://dx.doi.org/10.3390/jof9050542>.
9. Petraitis V, Petraitienė R, Katragkou A, Maung BBW, Moradi PW, Sussman-Straus GE, et al. Antifungal efficacy of isavuconazole and liposomal amphotericin B in a rabbit model of *Exserohilum rostratum* meningoencephalitis: A pre-clinical paradigm for management of CNS phaeohyphomycosis. *Med Mycol*. 2021;59:189–96. <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myaa102>.
10. Ramanzini LG, Medeiros SDP, Lima LMFV, Dos Santos MVR, Herbster EA, Araújo GDAS, et al. Cerebral cryptococcoma successfully treated by isavuconazole in an immunocompetent patient: a case report. *Radiol Case Rep*. 2022;18:824–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.radcr.2022.11.011>.

Jesús Fernández Plaza^{a,*}, Sandra Gregorio Malagón^b,
Manuel Poyato Borrego^{a,c} y Rafael Luque Márquez^{a,d}

^a Unidad de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

^b Unidad de Medicina Interna, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, España

^c CIBER de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

^d Infectious Diseases Research Group, Clinical Unit of Infectious Diseases, Microbiology and Preventive Medicine, Institute of Biomedicine of Seville (IBiS), University of Seville/CSIC/University Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jesusfernandezplaza@gmail.com (J. Fernández Plaza).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2024.04.008>

0213-005X/ © 2024 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Usefulness of decentralized sequencing networks on antimicrobial resistance surveillance



Utilidad de las redes de secuenciación descentralizadas en la vigilancia de la resistencia antibiótica

The increase of bacterial antimicrobial resistance is one of the biggest challenges to modern medicine, being associated with almost five million deaths and 1.2 million attributable deaths in 2019.¹ One of the key lessons learned from SARS-CoV-2 or mpox is that highly interconnected world that we live in, allows the rapid spread of new variants and diseases to almost every continent.² Therefore, even if carbapenemase producing Enterobacteriaceae (CPE) are not prevalent at a certain location currently this may change due to the introduction of a new CPE clone rapidly.³

Moreover, in recent years health systems are getting increasingly complicated with more intricate relationship between different hospitals and health-centres. Consequently, the introduction of clonal CPE may no longer be a local problem and represent a regional problem, causing a multihospital outbreak.^{4,5}

To tackle this problem, the characterization of CPE is needed to recognize the appearance of regional outbreaks. Until now the most common strategy has been to develop hierarchical networks with core laboratories that conducted most of the molecular characterization of CPE at regional or national level. However, the appearance of new sequencing platforms such as Oxford Nanopore (ONT) sequencers coupled with the flongle flowcells⁶ represent the perfect opportunity to develop new nodal networks. In this case, instead a central laboratory performing all analysis, each laboratory of the network can produce their own sequences that can be later shared between them.

In our area the most common CPE are *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*.⁷ However, other less common CPE such as *Citrobacter freundii* group have also been described.⁸ Therefore, the simultaneous first isolation of two carbapenem resistant *C. freundii* isolates on different hospitals in the same region raised many alarms.

The isolates were identified as *C. freundii* with the MALDI Biotyper MBT smart system (Bruker Daltonics, Germany). The antibiotic susceptibility was conducted with the Phoenix BD system (Becton Dickinson, USA) or the MicroScan Walkaway system (Beckman Coulter, USA). Both strains were carbapenem resistant and tested positive for New-Dehli-metalobetalactamase (NDM) with the CARBA-5 assay (NG Biotech, France). After swift coordination between both microbiology laboratories both were selected for a more thorough analysis by whole genome sequencing (WGS).

The DNA extraction was conducted with the MagNA Pure Bacteria 2.0 Protocol (Roche, Switzerland) and DNA concentration was quantified using the Qubit4 fluorometer (Thermo-Fisher Scientific,

USA), while quality assessment was performed using the NanoDrop One spectrophotometer (Thermo-Fisher Scientific, USA). The library was prepared with 400 ng of DNA following the ONT protocol for flongles and loaded on a FLO-MIN106 flongle (ONT, United Kingdom). This approach to the library synthesis requires a hands-on time of around half an hour. Genome assembly was performed using flye⁹ and medaka.

One isolate belonged to the ST22 and harboured a bla_{NDM-5} and a IncX3 incompatibility complex on the same contig, while the other isolate was an ST18 with a bla_{NDM-1} and a IncR on the same contig, thus ruling out the hypothesis of an interhospitalary outbreak.

To the conclusion of this study no new bla_{NDM}-producing Enterobacteriaceae has been isolated in any of both hospitals besides an ST214 *Klebsiella grimonti* with a bla_{NDM-5} and a IncX3 isolated from a rectal swab of the first patient. Therefore, even if no specific plasmid analysis was conducted these findings highlight the possibility of these worrying resistant genes on transmissible elements.

All in all, we think that this is a good example of a good cooperation between nearby centres and where the current state of the sequencing technologies at clinical microbiology laboratories. Such strategies will not undermine the role of said central laboratories as they will keep a vital role in the establishment of laboratory networks capable of performing WGS, coordinating the efforts of the network and advising nodal laboratories. Meanwhile, this approach enables a swift response as performing this analysis on a local base enables the nodal centres to take the necessary measures more quickly. Moreover, in our opinion this will improve the engagement of nodal laboratories in the efforts of AMR surveillance, and we firmly believe that the WGS no longer is a technology reserved for central reference laboratories but rather an important diagnostic that should be considered in almost every clinical microbiology laboratory.

Bibliografía

- Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399:629–55.
- Li J, Lai S, Gao GF, Shi W. The emergence, genomic diversity and global spread of SARS-CoV-2. *Nature*. 2021;600:408–18.
- López-Cerero L, Egea P, Gracia-Ahufinger I, et al. Characterisation of the first ongoing outbreak due to KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* (ST512) in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44:538–40.
- Saito N, Kitazawa J, Horiuchi H, et al. Interhospital transmission of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Aomori, Japan. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2022;11:99.
- Seara N, Oteo J, Carrillo R, et al. Interhospital spread of NDM-7-producing *Klebsiella pneumoniae* belonging to ST437 in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;46:169–73.
- Avershina E, Frye SA, Ali J, Takt AM, Ahmad R. Ultrafast and cost-effective pathogen identification and resistance gene detection in a clinical setting using Nanopore flongle sequencing. *Front Microbiol*. 2022;13:822402.