



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Comparación entre dilución en agar y otras 3 técnicas para la determinación de la sensibilidad de 228 aislamientos clínicos de bacilos gramnegativos no fermentadores

Jose Luis Gómez-Garcés*, Belén Aracil y Yolanda Gil

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Móstoles, Móstoles, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 7 de marzo de 2008

Aceptado el 8 de octubre de 2008

On-line el 5 de mayo de 2009

Palabras clave:

Antibiograma

Difusión con disco

Etest

Bacilos gramnegativos no fermentadores

RESUMEN

Introducción: La determinación de la sensibilidad de los bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF) es problemática y se necesitan alternativas que resulten válidas.

Métodos: En esta serie se estudió un total de 228 aislamientos clínicos de BGNNF que incluían 85 cepas de *Acinetobacter* spp., 80 cepas de *Stenotrophomonas maltophilia*, 50 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y otros 13 BGNNF (8 cepas de *Ralstonia pickettii* y 5 cepas de *Burkholderia cepacia*) mediante dilución en agar como método de referencia, y se compararon los resultados obtenidos con los métodos de difusión con discos, Etest y el sistema de microdilución VITEK 2 Compact System.

Resultados: El método de difusión con discos resulta inaceptable para *S. maltophilia* y para *P. aeruginosa*; ésta última fundamentalmente por su mala concordancia con colistina, aunque es válido para *Acinetobacter* spp. y para los restantes BGNNF. El sistema de microdilución VITEK 2 Compact System obtiene malos resultados para piperacilina-tazobactam, tigeciclina y ceftazidima con *S. maltophilia*. Resultan llamativos los porcentajes de errores menores con el VITEK 2 Compact System y el Etest para tigeciclina frente a *Acinetobacter* spp. y a *S. maltophilia*, probablemente debidos a la influencia en la distinta composición de los lotes de agar Muller-Hinton, lo que obliga a ser cauto en la interpretación de los resultados obtenidos por este último método.

Conclusión: El método de difusión con discos no es adecuado para *S. maltophilia*. El método es también inadecuado para *P. aeruginosa* y colistina. Los métodos Vitek 2 Compact System y Etest presentan errores menores para *S. maltophilia* y *Acinetobacter* spp. frente a tigeciclina.

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Comparison between agar dilution and three other methods for determining the susceptibility of 228 clinical isolates of non-fermenting gram-negative rods

ABSTRACT

Keywords:

Antibiogram

Disk Diffusion

Etest

Gram-negative non-fermenting rods

Introduction: Susceptibility testing for non-fermenting gram-negative rods (NFGNR) is problematic; valid methods are needed for this purpose.

Methods: In this study, 228 NFGNR clinical isolates were evaluated, including 85 *Acinetobacter* spp., 80 *Stenotrophomonas maltophilia*, 50 *Pseudomonas aeruginosa*, and 13 other species (8 *Ralstonia pickettii* and 5 *Burkholderia cepacia*). Agar dilution was used as the reference method, and results were compared with those obtained by disk diffusion, Etest, and microdilution performed with the VITEK 2 Compact System.

Results: The disk method was unacceptable for *S. maltophilia* and *P. aeruginosa*, in the latter organism, mainly because of poor agreement in the colistin results. Nonetheless, the disk method is valid for *Acinetobacter* spp. and the remaining NFGNRs. The VITEK 2 Compact System yielded poor results for piperacillin-tazobactam, tigecycline, and ceftazidime in *S. maltophilia*. There were minor discrepancies with the VITEK 2 Compact system and the Etest for tigecycline in *Acinetobacter* spp. and *S. maltophilia*, likely because of the differing composition of the Muller-Hinton agar lots. Hence, Etest results should be interpreted with caution.

Conclusion: The disk diffusion method is inadequate for *S. maltophilia*. This method is unacceptable for testing colistin in *P. aeruginosa*. The methods Vitek 2 Compact System and Etest show minor discrepancies for testing *S. maltophilia* and *Acinetobacter* spp. for tigecycline.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jlgarcés@microb.net (J.L. Gómez-Garcés).

Introducción

Los bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF), fundamentalmente *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* y *Pseudomonas aeruginosa*, se encuentran entre los patógenos más problemáticos a la hora de su erradicación, especialmente en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, neonatología y otras unidades clínicas que atienden a pacientes de riesgo^{1,2}. El tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos es habitualmente difícil debido a que presentan patrones de resistencia a múltiples antibióticos³⁻⁵.

Por otra parte, la determinación de la sensibilidad in vitro de estos microorganismos es problemática y, en ocasiones, poco satisfactoria^{6,7}. El método de difusión con discos no es reproducible para la mayoría de estas cepas y, en consecuencia, resulta muchas veces poco apropiado para obtener información útil en el tratamiento de estas infecciones^{8,9}. Los métodos de dilución son los métodos recomendados para estos microorganismos y aunque el Etest se ofrece como una posible técnica alternativa, también su aplicación en algunos casos parece tener limitaciones¹⁰.

Se han empleado diferentes sistemas automatizados en la identificación y en la determinación de la sensibilidad de los microorganismos más relevantes en clínica. El sistema de microdilución VITEK 2 Compact System (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) es un sistema para la monitorización de la cinética de crecimiento bacteriano y el cálculo de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) mediante la utilización de un único algoritmo. Desgraciadamente algunos estudios han mostrado errores asociados a la determinación de la sensibilidad de varios agentes antimicrobianos cuando se refieren a BGNNF⁸.

El objetivo de este estudio es evaluar la validez de diferentes métodos: difusión con discos, Etest y el sistema automatizado VITEK 2 Compact System, y compararlos con el método de dilución en agar, considerado como método de referencia para la determinación de la sensibilidad de 85 cepas de *Acinetobacter* spp., 80 cepas de *S. maltophilia*, 50 cepas de *P. aeruginosa* y otros 13 BGNNF (8 cepas de *Ralstonia pickettii* y 5 cepas de *Burkholderia cepacia*) frente a 7 agentes antimicrobianos potencialmente útiles en el tratamiento de las diferentes infecciones causadas por estos microorganismos.

Material y métodos

Microorganismos

Se estudió un total de 228 BGNNF que incluían 85 cepas de *Acinetobacter* spp., 80 cepas de *S. maltophilia*, 50 cepas de *P. aeruginosa* y otros 13 BGNNF (8 cepas de *R. pickettii* y 5 cepas de *B. cepacia*). Todos los aislamientos procedían de muestras clínicas obtenidas en un período de tiempo comprendido entre 1996 y 2006. Las cepas control fueron las cepas de referencia: *Escherichia coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 28753, que se incluyeron en cada experimento realizado.

Todos los aislamientos se identificaron mediante métodos recomendados y empleados habitualmente en este laboratorio¹¹.

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias por el método de dilución en agar

El CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) considera la determinación de las CMI por dilución en agar como un método de referencia para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana de los BGNNF¹².

Cada fabricante suministró los agentes antimicrobianos en forma de sustancia valorada y especificó la potencia de cada uno: tigeclina (Wyeth-Ayerst, West Chester, PA, EE. UU.), piperacilina-tazobactam (Wyeth-Ayerst, West Chester, PA, EE. UU.), ceftazidima (Glaxo, Barcelona, España), imipenem (Merk, Rahway, NJ, EE. UU.), gentamicina (Sigma, Steinheim, Alemania), ciprofloxacino (Bayer, Leverkusen, Alemania) y colistina (Sigma-Chemical, St. Louis, MO, EE. UU.).

Se emplearon placas circulares de 90 mm de diámetro con 20 ml de agar Mueller-Hinton (Becton Dickinson, Le Point the Claix, Francia) y concentraciones determinadas de cada agente antimicrobiano en la proporción de 19 ml de medio por 1 ml de la solución correspondiente de agente antimicrobiano. Las placas y los controles de medio sin el agente antimicrobiano se utilizaron el mismo día de su preparación.

Cuatro o 5 colonias del microorganismo por estudiar se diluyeron en caldo Mueller-Hinton suplementado (Becton Dickinson, Le Point the Claix, Francia) para obtener una turbidez cercana al 0,5 de la escala de McFarland, equivalentes a 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Previa dilución 1:10, se empleó un replicador de Steers que inoculó 1 µl en cada punto de contacto, lo que equivalía aproximadamente a 10^4 UFC de cada microorganismo por ml en placas de agar Mueller-Hinton. Las placas así inoculadas se incubaron a 35 °C de 16 a 20 h; a continuación se procedió a su lectura. Las CMI se definieron como la concentración más baja a la que sucedía una inhibición completa del crecimiento. No se valoró la presencia de una sombra o de una única colonia en el punto de inoculación¹².

En el análisis de los resultados se utilizaron los criterios y los puntos de corte que recomienda el CLSI¹², excepto para tigeclina, que al no estar disponibles se utilizaron los que acepta la FDA (Food and Drug Administration) y el fabricante (Tygacil 2005, Tigecycline package insert; Wyeth Pharmaceuticals, Philadelphia, PA, EE. UU.).

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias por el método de gradiente de difusión (Etest)

Utilizando torundas de algodón, el inóculo de una suspensión de 0,5 de la escala McFarland de cada microorganismo se extendió sobre una placa de agar Mueller-Hinton (Becton Dickinson, Le Point the Claix, Francia) hasta cubrir la superficie completa de ésta. Las tiras de Etest se colocaron en la placa en posición radial y se incubaron en atmósfera de aire a 37 °C durante 18 h. En los casos en los que había sombras o crecimiento de colonias pequeñas en el punto de corte, se consideró como CMI la inmediatamente superior según la interpretación de acuerdo con las indicaciones del fabricante (AB Biodisk, Solna, Suecia).

Difusión con discos

Siguiendo la técnica descrita anteriormente y utilizando discos de tigeclina (15 µg), piperacilina-tazobactam (100/10 µg), ceftazidima (30 µg), imipenem (10 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacino (5 µg) y colistina (10 µg) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) se valoró el diámetro de inhibición de cada uno de estos siguiendo la normativa del CLSI¹² o, en el caso de tigeclina, la normativa que indicó la FDA y el fabricante (Tygacil 2005, Tigecycline package insert; Wyeth Pharmaceuticals, Filadelfia, PA, EE. UU.).

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias mediante un sistema automatizado de microdilución (VITEK 2 Compact System)

La determinación de la sensibilidad con el sistema de microdilución VITEK 2 Compact System se llevó a cabo con las

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3402310>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3402310>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)