

Comparación de tres métodos para determinar la sensibilidad a imipenem y meropenem en *Acinetobacter baumannii* con fenotipo heterorresistente a carbapenemes

Felipe Fernández-Cuenca^a, Pilar Egea^a, Lorena López-Cerero^{a,b}, Paula Díaz-De Alba^a, Jordi Vila^c y Álvaro Pascual^{a,b}

^aServicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. ^bFacultad de Medicina. Universidad de Sevilla. Sevilla. ^cServicio de Microbiología. Centro de Diagnóstico Biomédico. Hospital Clínic. IDIBAPS. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona. Barcelona. España.

INTRODUCCIÓN. Se ha determinado la concordancia entre tres métodos para determinar la sensibilidad a imipenem (IMP) y meropenem (MPM) en *Acinetobacter baumannii* heterorresistente a carbapenemes (Hr-CP).

MÉTODOS. Se incluyen 30 aislados de *A. baumannii* pertenecientes a 6 clones (REP-PCR) y con concentración inhibitoria mínima (CIM) (mg/l) de IMP o MPM determinadas por Wider entre ≤ 1 y ≥ 8 . Las CIM obtenidas con Wider se compararon con las determinadas por microdilución y E-test. Los errores de categoría clínica se determinaron usando la microdilución como método de referencia.

RESULTADOS. Un total de 25 aislados fueron Hr-CP (presencia de colonias dentro de los halos de inhibición de tiras de E-test y discos). En los aislados Hr-CP la concordancia en las CIM ($\pm 1\log_2$) fue: Wider frente a microdilución (el 96%, IMP; el 100%, MPM), Wider frente a E-test (el 50%, IMP; el 64%, MPM), microdilución frente a E-test (el 64%, IMP; el 60%, MPM). No se observaron errores máximos. Los errores menores y los mayores para IMP fueron: Wider frente a microdilución (el 40 y el 0%), E-test frente a microdilución (el 40 y el 12%) y disco frente a microdilución (el 36 y el 8%). Considerando las colonias que crecen dentro de los halos de inhibición (E-test y discos), la concordancia en las CIM fue: Wider frente a E-test (el 8%, IMP; el 12%, MPM), MD frente a E-test (el 8% IMP y MPM). En este caso tampoco se observaron errores máximos, mientras que los errores menores y los mayores fueron: E-test frente a microdilución (el 40 y el 48%) y disco frente a microdilución (el 40 y el 48%).

CONCLUSIÓN. Los métodos de microdilución en caldo (Wider y microdilución) no son útiles para detectar subpoblaciones de aislados de *A. baumannii* Hr-CP.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*. Heterorresistencia. Carbapenemes.

Comparison of 3 methods for determining sensitivity to imipenem and meropenem in *Acinetobacter baumannii* with a carbapenem-heteroresistant phenotype

INTRODUCTION. We assessed agreement among 3 assays for determining susceptibility to imipenem (IMP) and meropenem (MPM) of *Acinetobacter baumannii* (Ab) heteroresistant to carbapenems (Hr-CP).

METHODS. Thirty Ab clinical isolates belonging to 6 clones (REP-PCR) were studied, in which IMP and MPM MICs were between ≤ 1 and ≥ 8 mg/l by Wider system. MICs determined by Wider were compared with those obtained by microdilution (MD) and E-test. Errors in the clinical category were determined considering MD as the reference method.

RESULTS. Twenty-five Ab were Hr-CP (growth of resistant colonies within the inhibition area of disks and E-test strips). Agreement for the MICs ($\pm 1\log_2$) in Hr-CP colonies was as follows: Wider vs. MD (96% IMP, 100% MPM), Wider vs. E-test (50% IMP, 64% MPM), MD vs. E-test (64% IMP, 60% MPM). Major errors were not observed. Minor errors and moderate errors for IMP included Wider vs. MD (40% and 0%), E-test vs. MD (40% and 12%), and disks vs. MD (36% and 8%). Agreement for the MICs considering colonies growing within the inhibition areas (E-test and disks) was Wider vs. E-test (8% IMP, 12% MPM), and MD vs. E-test (8% IMP and MPM). Major errors were not observed in this case either; minor errors and moderate errors for IMP were seen in E-test vs. MD (40% and 48%), and disks vs. MD (40% and 48%).

CONCLUSION. Susceptibility testing methods based on microdilution (Wider system and MD) are not useful to detect subpopulations of Ab Hr-CP.

Key words: *Acinetobacter baumannii*. Heteroresistance. Carbapenems.

Introducción

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista considerado de baja virulencia que se caracteriza por su gran capacidad de diseminación en el ambiente hospitalario y por su facilidad para adquirir resistencia a los antimicrobianos usados en clínica, incluidos los de amplio es-

Correspondencia: Dr. F. Fernández-Cuenca.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena.
Avda. Doctor Fedriani, 3. 41009 Sevilla. España.
Correo electrónico: felipefc@us.es

pectro, como los carbapenemes¹. La resistencia a carbapenemes en *A. baumannii* suele estar mediada por la producción de betalactamasas (fundamentalmente oxacilinasas y, en menor medida, metalo-betalactamasas)^{1,2}, aunque no se pueden descartar otros mecanismos de resistencia, como la hiperproducción de AMPc en cepas deficientes en porinas, la sobreexpresión de bombas de flujo o alteraciones en las proteínas fijadoras de penicilina³.

El fenómeno de heterorresistencia a los antimicrobianos consiste en la presencia de subpoblaciones resistentes minoritarias en una población sensible. La heterorresistencia en *A. baumannii* se ha descrito con colistina⁴ y los carbapenemes⁵ y puede detectarse fenotípicamente por la presencia de colonias en el interior del halo de inhibición de discos o tiras de E-test. No existen datos en la literatura médica sobre la utilidad de los métodos de microdilución en caldo para detectar cepas de *A. baumannii* heterorresistente a carbapenemes. Además, se desconoce cuál es la causa o los mecanismos de resistencia a carbapenemes implicados en estas cepas y no existe experiencia sobre la utilidad clínica de carbapenemes en infecciones causadas por cepas de *A. baumannii* heterorresistente a carbapenemes.

El objetivo de este estudio fue determinar si existe concordancia entre tres métodos para determinar la sensibilidad/resistencia a carbapenemes de *A. baumannii* con fenotipo heterorresistente a carbapenemes.

Métodos

Se incluyen 30 aislados clínicos de *A. baumannii* obtenidos desde febrero de 2006 hasta enero de 2007 de muestras de orina (n = 14), aspirado traqueal/bronquial (n = 10), exudado de herida (n = 4), sangre (n = 1), y líquido ascítico (n = 1) de pacientes ingresados en el Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Los aislados se seleccionaron en función de las cantidades inhibitorias mínimas (CIM) de imipenem o meropenem determinadas con el sistema Wider I (Francisco Soria Melguizo, S.A., Madrid, España): ≤ 1 mg/l (4 aislados); 2, 4 u 8 mg/l (24 aislados); y ≥ 8 mg/l (2 aislados). La identificación bacteriana se realizó usando los sistemas Wider I y Api 20 NE (bioMérieux API, Marcy l'Étoile, Francia) y el crecimiento a 44 °C en caldo común. La relación clonal de los aislados se determinó mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa de elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP-PCR)⁶. El medio utilizado para determinar la heterorresistencia fue agar Mueller-Hinton (Difco, España). La heterorresistencia a carbapenemes se definió por la presencia de colonias de *A. baumannii* en el interior de los halos de inhibición de tiras de E-test (AB Biodisk, Suecia) y discos (Oxoid, España) con imipenem y/o meropenem.

Las CIM de imipenem y meropenem se determinaron mediante Wider I, microdilución en caldo Mueller-Hinton (recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI])⁷ y E-test. Las lecturas fueron realizadas por tres observadores. Los resultados de CIM determinados por dos métodos se consideraron concordantes si existía una diferencia de ± 1log₂. Los errores de categoría clínica se determinaron comparando los resultados obtenidos con Wider I, E-test y discos con los determinados por microdilución (método de referencia).

Con el objeto de determinar la frecuencia de las subpoblaciones heterorresistentes se utilizó un aislado (*Acinetobacter baumannii* 98.06 [Ab 98.06]) representativo del clon más prevalente. Se prepararon placas de agar con concentraciones de imipenem y meropenem equivalentes a 2, 4, 8 y 16 veces su respectivo valor de CIM (8 mg/l para imipenem y 4 mg/l para meropenem) y se inocularon con 0,1 ml de una suspensión bacteriana del aislado Ab 98.06 preparada en solución salina a una concentración equivalente a un 0,5 de McFarland.

El aislado Ab 98.06 y una de las colonias que crecen dentro del halo de inhibición con meropenem se subcultivaron 10 veces en agar sin meropenem y en agar con meropenem en una concentración de 2 mg/l. Posteriormente se determinó si el fenómeno de heterorresistencia se reproducía usando tiras de E-test y discos de meropenem.

Resultados

Se obtuvieron seis patrones diferentes de REP-PCR o genotipos (2, 3, 4, 6, 9A y 9B). El 67% de los aislados pertenecían al mismo clon y el 83% de los 30 aislados fueron heterorresistentes a carbapenemes (fig. 1). La relación entre genotipo y CIM de imipenem fue: genotipo 9A (dos aislados; CIM de 0,5 y 2 mg/l, respectivamente), genotipo 9B (un aislado; CIM de 0,5 mg/l), genotipo 4 (uno aislado; CIM de 4 mg/l), genotipo 3 (un aislado; CIM de 64 mg/l), genotipo 2 (cuatro aislados; CIM de 0,5, 2, 4 y 8 mg/l, respectivamente) y genotipo 6 (21 aislados; CIM de 0,5 mg/l para un aislado, 2 mg/l para un aislado, 4 mg/l para nueve aislados, 8 mg/l para nueve aislados y 16 mg/l para un aislado).

El análisis de los resultados se realizó de dos maneras, una sin considerar las colonias resistentes que crecen en el interior de los halos de inhibición de las tiras de E-test y los discos de imipenem y/o meropenem, y otra considerando dichas colonias. En los aislados heterorresistentes, la concordancia en las CIM de imipenem y meropenem sin considerar las colonias resistentes fue la siguiente: el 96% para imipenem y el 100% para meropenem al comparar Wider I y la microdilución, el 50% para imipenem y el 64% para meropenem al comparar Wider I y E-test, y el 64% para imipenem y el 60% para meropenem al comparar la microdilución y E-test. Los resultados discrepantes obtenidos al comparar los tres métodos (Wider I y microdilución, Wider I y E-test, microdilución y E-test) se debieron a que las CIM obtenidas con el primer método fueron cuatro o más veces más bajas que las determinadas por el segundo método.

La concordancia en las CIM de imipenem y meropenem teniendo en cuenta las colonias resistentes de los aislados heterorresistentes fue: el 8% para imipenem y el 12% para meropenem al comparar Wider I y E-test, y el 8% para imipenem y meropenem al comparar la microdilución y E-test.

Al comparar las categorías clínicas para imipenem y meropenem no se observaron errores máximos (aislado sensible por Wider I, E-test o discos y resistente por microdilución). Como puede verse en la tabla 1, los errores menores y los errores mayores (aislado resistente por Wider I, E-test o discos y sensible por microdilución) fueron muy elevados, especialmente cuando se compara la microdilución frente a los métodos de difusión en agar (E-test y discos) y se consideran las colonias que crecen en el interior de los halos de inhibición.

En los aislados no heterorresistentes la concordancia en las CIM de imipenem y meropenem fue del 100% para imipenem y meropenem al comparar Wider I y la microdilución, y del 100% para imipenem y el 75% para meropenem al comparar Wider I y la microdilución frente a E-test.

Las frecuencias de las subpoblaciones resistentes a carbapenemes en presencia de concentraciones de meropenem de 8 y 16 mg/l fueron superiores ($8-2 \times 10^{-7}$ ufc/ml) a

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3402571>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3402571>

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