



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Identificación y determinación de sensibilidad a antibióticos de aislados de hemocultivos a partir de subcultivos de corta incubación

Mónica Ballester-Téllez^{a,*}, Esther Recacha^a, Marina de Cueto^{a,b} y Álvaro Pascual^{a,b}

^a Unidad Intercentros de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva, Hospital Virgen Macarena-Virgen del Rocío, Sevilla, España

^b Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 11 de septiembre de 2015

Aceptado el 8 de enero de 2016

On-line el xxx

Palabras clave:

Hemocultivo

Bacteriemia

Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization

Time-of-Flight

Sensibilidad a antibióticos

R E S U M E N

Introducción: La espectrometría de masas *Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) permite la identificación rápida de los microorganismos causantes de bacteriemia. Se requieren métodos fiables y rápidos que permitan acortar el tiempo necesario hasta disponer de los resultados de sensibilidad a antibióticos de los aislados de hemocultivos.

Métodos: Se evalúa la fiabilidad de un método que combina la identificación con MALDI-TOF y el estudio de sensibilidad en paneles de microdilución inoculados a partir de un subcultivo incubado durante solo 4 h.

Resultados: La concordancia de los resultados de sensibilidad a antibióticos de la técnica evaluada frente a la técnica de referencia fue del 99,3%, sin que se observaran errores máximos.

Conclusión: La inoculación de paneles de microdilución a partir de un subcultivo de solo 4 h de incubación es un método fiable y fácil de realizar que permite acortar el tiempo de informe de hemocultivos positivos.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Identification and antimicrobial susceptibility testing of positive blood culture isolates from briefly incubated solid medium cultures

A B S T R A C T

Keywords:

Bloodculture

Bacteremia

Matrix-Assisted Laser

Desorption-Ionization Time-of-Flight

Antimicrobial susceptibility

Introduction: Mass spectrometry *Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) helps in the rapid identification of microorganisms causing blood stream infection. Rapid and reliable methods are required to decrease the turnaround time for reporting antimicrobial susceptibility results from blood culture isolates.

Methods: An evaluation was performed on the reliability of a method for antimicrobial susceptibility testing of positive blood culture isolates from briefly incubated solid medium cultures.

Results: The agreement between the evaluated and standard methods was 99.3%. The major and minor error rates were 0.4% and 0.3%, respectively, and no very major errors were observed.

Conclusion: The inoculation of briefly incubated solid medium cultures into antimicrobial susceptibility testing panels is an easy and reliable technique, and helps to decrease the turnaround time for reporting antimicrobial susceptibility results of positive blood cultures.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

La infección del torrente sanguíneo es una causa importante de morbimortalidad¹. El hemocultivo continúa siendo la técnica de referencia para el diagnóstico etiológico de bacteriemia, permitiendo además el estudio de sensibilidad de los aislados². La rápida

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: m.ballester.t@gmail.com (M. Ballester-Téllez).

información de estos resultados permite la instauración precoz de un tratamiento antibiótico adecuado que mejora el pronóstico del paciente séptico^{3,4}.

La espectrometría de masas *Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) es una técnica rápida y fiable para la identificación bacteriana^{5,6}. Su realización directamente a partir de hemocultivos positivos reduce considerablemente el tiempo de obtención de resultados^{7,8}. Se han utilizado estrategias que combinan la identificación con MALDI-TOF y la inoculación de paneles de antibiograma directamente del frasco del hemocultivo positivo; sin embargo, los protocolos publicados incluyen diferentes pasos de centrifugación y lavado que resultan laboriosos para ser implementados en la rutina del laboratorio⁸⁻¹¹. Se han comunicado buenos resultados combinando la identificación con MALDI-TOF con la inoculación de paneles de microdilución a partir de subcultivos incubados durante cortos periodos de tiempo^{12,13}.

Con el objetivo de disminuir el tiempo de informe de los hemocultivos positivos, en el presente trabajo evaluamos la fiabilidad de los resultados de sensibilidad obtenidos con paneles del sistema WIDER (Francisco Soria Melguizo, Madrid, España) inoculados a partir de un subcultivo de 4 h de incubación.

Métodos

Durante un periodo de 3 meses (enero-marzo 2015) se han estudiado 138 hemocultivos consecutivos positivos correspondientes a 138 pacientes diferentes. Los hemocultivos fueron procesados con el sistema BD BACTEC™ FX (Becton Dickinson, Maryland, EE. UU.). A los frascos positivos se le realizó tinción de Gram y subcultivo en agar chocolate (37 °C, 5%CO₂).

Después de 4 h de incubación, se realizó un barrido del crecimiento en agar chocolate con una espátula de madera y se realizó la identificación con el sistema MALDI-TOF (Bruker, MALDI Biotyper 3.0) mediante la técnica de transferencia directa a placa con ácido fórmico^{6,8,12}. Se consideró aceptable un *score* > 1,7.

Cuando la identificación tuvo un *score* aceptable, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) por técnica de microdilución en paneles WIDER MIC/IDGP y MIC/IDGN para bacterias grampositivas y gramnegativas, respectivamente. Para la inoculación de los paneles se preparó una suspensión bacteriana a partir del subcultivo de 4 h. Se utilizó el sistema de inoculación Prompt™ Inoculation System Wands, siguiendo instrucciones del fabricante. Para comprobar la pureza del inóculo se realizó siembra en agar sangre de 10 µl de la suspensión bacteriana. Los paneles fueron incubados a 37 °C, realizándose la lectura después de 14-18 h de incubación.

En paralelo, tras 24 h de incubación, a partir de las colonias aisladas en el medio agar chocolate se realizó la inoculación estandarizada de los aislados en los mismos paneles WIDER. Los resultados obtenidos con esta técnica se han considerado como referencia para evaluar los obtenidos a partir del subcultivo de 4 h.

Para comparar los resultados, las CMI obtenidas se han transformado en categorías clínicas (sensible, intermedio, o resistente) de acuerdo con el sistema experto de WIDER que aplica los criterios del *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI)¹⁴. Los resultados obtenidos con la técnica evaluada con respecto a la técnica estándar se han clasificado como concordantes (interpretación idéntica en ambos métodos), errores máximos (falsa sensibilidad), errores mayores (falsa resistencia) y errores menores (sensible/resistente vs. intermedio).

Los paneles WIDER empleados permiten la identificación del aislado; sin embargo, la fiabilidad de MALDI-TOF como técnica de identificación ha sido suficientemente evaluada y nuestro objetivo fue únicamente evaluar la fiabilidad de los resultados de sensibilidad obtenidos a partir del subcultivo de 4 h de incubación. En

Tabla 1

Agentes causales de bacteriemia identificados mediante MALDI-TOF (*score* > 1.7)

Etiología	Microrganismos, n (%)
<i>Cocos grampositivos</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 (42,8)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5 (23,8)
<i>Enterococcus faecalis</i>	5 (23,8)
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (9,5)
Total	21 (100)
<i>Bacilos gramnegativos</i>	
<i>Escherichia coli</i>	51 (52,0)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14 (14,3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (8,1)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6 (6,1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 (5,1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4 (4,0)
<i>Proteus mirabilis</i>	3 (3,0)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (1,0)
<i>Aeromonas veronii</i>	1 (1,0)
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (1,0)
<i>Citrobacter koseri</i>	1 (1,0)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (1,0)
<i>Kluyvera ascorbata</i>	1 (1,0)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (1,0)
Total	98 (100)

este sentido, no se han evaluado discrepancias en la identificación entre los sistemas MALDI-TOF y WIDER. Cuando se encontró alguna discrepancia en la identificación, se introdujo manualmente en el sistema la identificación obtenida con MALDI-TOF.

Resultados

De los 138 hemocultivos estudiados, 19 fueron excluidos. En 9 aislados (2 *Bacteroides* spp., un *Streptococcus pneumoniae*, 3 estafilococos coagulasa negativa, un *Escherichia coli* y 2 cultivos polimicrobianos) no se consiguió la identificación con MALDI-TOF (*score* < 1,7) después de 4 h de incubación. Otros 6 aislados (3 *S. pneumoniae*, un *Streptococcus agalactiae*, un *Streptococcus pyogenes* y un *Listeria monocytogenes*), aunque fueron correctamente identificados, fueron excluidos porque en la rutina del laboratorio no se realiza estudio de sensibilidad por técnica de microdilución a estos patógenos. Otros 4 casos en los que se observaron levaduras en la tinción de Gram también fueron excluidos.

En 119 hemocultivos se obtuvo una identificación aceptable (*score* > 1,7) con MALDI-TOF y se realizó CMI a partir del subcultivo incubado durante 4 h: 98 (83%) fueron bacilos gramnegativos (BGN) y 21 (17%) cocos grampositivos (CGP) (tabla 1).

Solo en 3 casos (un *Citrobacter koseri*, un *Enterobacter cloacae* y un *Enterobacter sakazaki*) se observaron discrepancias en la identificación de especie entre los 2 sistemas empleados.

Para BGN se han evaluado un total de 1.522 combinaciones de antibióticos/microorganismos. Para CGP, el total de combinaciones estudiadas ha sido de 246. La concordancia entre los resultados de sensibilidad obtenidos con la técnica estándar y la técnica evaluada fue del 99,3%; la tasa de errores mayores y menores fue del 0,4 y del 0,3%, respectivamente, sin que se observaran errores máximos (tabla 2). No se observaron diferencias en las tasas de error entre las diferentes especies bacterianas incluidas. No se detectó ninguna cepa productora de carbapenemasa, y entre 3 cepas de *E. coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido y una cepa de *S. aureus* resistente a meticilina hubo una concordancia total con el método de referencia.

El informe de identificación y sensibilidad se emitió en los 119 casos estudiados en menos de 24 h desde la detección del hemocultivo positivo.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8745588>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8745588>

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