

Identificación y sensibilidad antibiótica directas desde el hemocultivo positivo para bacilos gram negativos. Rendimiento comparativo de los sistemas Vitek 2C y Phoenix

► Natalia Andrea Carrion^{1a}, Rolando Noel Soloaga^{2b*}, Camila Asenzo^{3a}, Facundo Martín Molina Abalos^{3a}, María Serafina Ratti^{3a}, Adriana Susana Diez^{1a}, Juan Carlos Pidone^{1a}, Víctor Alonso Mamani^{3a}

¹ Bioquímica/o. Especialista en Microbiología Clínica.

² Doctor en Bioquímica.

³ Bioquímica/o.

^a Servicio de Microbiología, Hospital Naval "Pedro Mallo", Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

^b Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Salvador, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* Autor para correspondencia.

Resumen

El objetivo de este estudio fue comparar los resultados de las pruebas de identificación y sensibilidad antimicrobiana obtenidos por los sistemas Vitek 2C (bioMérieux, Francia) y Phoenix (Becton Dickinson, EE.UU.) directamente a partir de hemocultivos positivos. Se realizó un estudio observacional prospectivo en el Hospital Naval Pedro Mallo de Buenos Aires, Argentina, que incluyó 70 bacteriemias monomicrobianas por gram negativos. Se obtuvo una identificación correcta por Vitek® 2C y por Phoenix del 100% y 97% respectivamente [*p*: no significativa (NS)]. La concordancia categórica para todos los antimicrobianos fue 97,1% y 98,1% (*p*: NS) con Vitek 2C y con Phoenix respectivamente. El tiempo medio para obtener un resultado fue de 10,19 h y 13,8 h (*p*: NS), respectivamente. Vitek 2C y Phoenix son herramientas importantes, rápidas y confiables para la identificación y las pruebas de sensibilidad realizadas directamente a partir de hemocultivos positivos.

Palabras clave: Vitek 2C; Phoenix; Bacteriemia; Bacilos gram negativos

Direct identification and susceptibility testing from positive blood cultures. A head-to-head performance comparison between Vitek 2C and Phoenix systems

Abstract

The aim of this study was to compare the results of identification and antimicrobial susceptibility tests obtained by the Vitek 2C (bioMérieux, France) and Phoenix (Becton Dickinson, USA) systems directly from positive blood cultures. A prospective observational study was performed at the Pedro Mallo Navy Hospital in Buenos Aires, Argentina, which included 70 monomicrobial bacteremias by gram negative rods. Correct identification by Vitek® 2C and Phoenix was 100% and 97%, respectively [*p*: not significant (NS)]. Categorical agreement for all antimicrobials was 97.1% and 98.1%

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

(*p*: NS) with Vitek 2C and Phoenix, respectively. The mean time to result was 10.19 h and 13.8 h (*p*: NS), respectively. Vitek 2C and Phoenix are important, rapid and reliable tools for identification and susceptibility testing when performed directly from positive blood cultures.

Keywords: Vitek 2C; Phoenix; Bacteremia; Gram-negative rods

Identificação e sensibilidade antibiótica diretas a partir da hemocultura positiva para bacilos gram negativos. Desempenho comparativo dos sistemas Vitek 2C e Phoenix

Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar os resultados dos testes de identificação e de suscetibilidade antimicrobiana obtidos pelos sistemas Vitek 2C (bioMérieux, França) e Phoenix (Becton Dickinson, EUA) diretamente a partir de culturas de sangue positivas. Foi realizado um estudo observacional prospectivo no Hospital Naval Pedro Mallo em Buenos Aires, Argentina, incluindo 70 bacteriemias monomicrobianas devido a gram negativos. A identificação correta por Vitek@ 2C e Phoenix obtida foi de 100% e 97% respectivamente [*p*: não significativo (NS)]. O acordo categórico para todos os antimicrobianos foi de 97,1% e 98,1% (*p*: NS) com Vitek 2C e Phoenix respectivamente. O tempo médio para obter o resultado foi de 10,19 h e 13,8 h (*p*: NS), respectivamente. Vitek 2C e Phoenix são ferramentas importantes, rápidas e fiáveis para a identificação e testes de sensibilidade realizados diretamente a partir de hemoculturas positivas.

Palavras-chave: Vitek 2C; Phoenix; Bacteremia; Bacilos gram negativos

Introducción

Algunos autores (1) demostraron un incremento significativo en la mortalidad de los pacientes con sepsis cuando la demora en empezar un tratamiento antimicrobiano adecuado fue mayor de 24 h desde la obtención de los cultivos. Otros, como Kumar *et al.* (2) sugirieron que debía iniciarse dentro de la hora desde el comienzo del *shock* séptico. Acorde al último documento de la Campaña de Sobreviviendo a la Sepsis (3), debería comenzar dentro de la hora el tratamiento antimicrobiano adecuado de los pacientes con sepsis y con *shock* séptico y dentro de las tres horas en aquellos sin *shock*. De todas formas, debe empezar lo antes posible.

Para la optimización inicial del tratamiento antimicrobiano es necesario contar con los resultados de sensibilidad antibiótica en el mismo día del cultivo positivo y, precisamente, los sistemas automatizados para realizar identificación y sensibilidad antibiótica presentan la ventaja de brindar resultados rápidos.

El antibiograma directo desde el frasco de hemocultivo puede realizarse por microdilución, por difusión con lectura rápida a las cuatro, seis u ocho horas acorde a las recomendaciones del EUCAST (4) o por métodos automatizados; estos últimos también pueden hacerse desde una pátina de un crecimiento incipiente de un subcultivo de 3-6 h (5).

El objetivo de este trabajo fue comparar el rendimiento en la identificación y sensibilidad antibiótica de bacilos gram negativos realizados por Vitek 2C (bioMérieux,

Francia) y Phoenix (Becton Dickinson, EE.UU.) a partir del frasco de hemocultivo positivo.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional prospectivo en el Hospital Naval Pedro Mallo de la Ciudad de Buenos Aires (Argentina) donde se incluyeron 70 episodios monomicrobianos de bacteriemia por bacilos gram negativos correspondientes a 66 pacientes. Las pruebas se realizaron a partir de botellas aeróbicas.

Cuando un hemocultivo se detectó positivo por el sistema Bactec (Becton Dickinson, EE.UU.), se mezcló suavemente el contenido y se aspiraron 6 mL de caldo que se colocaron en un tubo separador de suero (Becton Dickinson, EE.UU.) y luego se centrifugó a 2000 r.p.m. durante 10 min. Después de la centrifugación se descartó el sobrenadante con una pipeta Pasteur y el sedimento se resuspendió en 3 mL de solución salina al 0,45% y el inóculo se ajustó a un estándar McFarland de 0,5-0,63 por medio del Densichek de Vitek 2C o del nefelómetro PhoenixSpec acorde al equipo a usar. Luego, las tarjetas/paneles fueron inoculadas siguiendo las instrucciones de cada fabricante.

La identificación de especies se realizó con la tarjeta GNI (Vitek 2C) y el panel NMIC/ID-406 (Phoenix) y las pruebas de sensibilidad antibiótica se determinaron con la tarjeta AST-368 del Sistema Vitek 2C (bioMérieux, Marcy, Francia) y NMIC/Panel ID-406 (Phoenix). Es-

tos resultados se compararon con los obtenidos con los métodos estandarizados según las recomendaciones de cada fabricante a partir de colonias aisladas en los subcultivos en medios sólidos con 18-24 h de incubación.

Dado que las tarjetas/paneles de prueba aplicados tienen una selección diferente de antibióticos, la comparación se realizó sobre 8 antimicrobianos incluidos en ambas tarjetas/paneles de prueba.

Las identificaciones se confirmaron por MALDI-TOF (Bruker, Daltonics, Bremen, Alemania) y las discrepancias de sensibilidad antibiótica entre ambos sistemas o dentro de cada sistema se resolvieron por microdilución (Sensititre, ThermoFisher, Waltham, MA).

Se realizó el cálculo de los errores muy mayores, mayores, menores y de la correlación categórica acorde a definiciones del CLSI (6); se consideró un rendimiento aceptable cuando se obtuvo una correlación categórica o esencial: $\geq 90\%$ y $\leq 3\%$ para errores muy mayores o mayores (7).

Se realizó el análisis estadístico por medio del *test* de Student. Se tomó en cuenta para la significación estadística una $p < 0,05$; caso contrario se consideró no significativo (NS). El análisis estadístico se realizó utilizando el *software* STATA versión 14.2 (Texas, EE.UU.).

El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del hospital y no se requirió aprobación por parte de los pacientes dado que el protocolo forma parte de la rutina diaria del laboratorio.

Resultados

La identificación fue correcta en el 100% (70/70) con Vitek 2C y en el 97% (68/70) con Phoenix. En la Tabla I

se muestra la identificación acorde a cada microorganismo aislado y los correspondientes sistemas. En la Tabla II se muestran los errores menores, mayores, muy mayores y la correlación categórica para los distintos antibióticos ensayados con cada sistema. Los pocos errores que se observaron para cefotaxima, ceftazidima, piperacilina-tazobactam e imipenem no correspondieron en ningún caso a cepas productoras de β -lactamasa de espectro extendido ni a carbapenemasas. Una determinación de sensibilidad antibiótica se interrumpió en el caso de Phoenix debido a un corte de energía eléctrica.

Los dos equipos detectaron correctamente al 100% (n: 14) de las cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido; las mismas correspondieron a *Klebsiella pneumoniae* (n: 10), *Serratia marcescens* (n: 3) y *Escherichia coli* (n: 1). Con Vitek 2C se observaron dos errores menores con meropenem: un aislado de *K. pneumoniae* y otro de *S. marcescens* dieron por el método directo CIM de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y, por el estandarizado, 16 y 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente. También se registraron errores menores con imipenem en dos aislados de *Proteus mirabilis*, en los que la CIM por el método directo fue de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y, por el estandarizado, de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En el caso del sistema Phoenix, se observaron errores mayores para meropenem en dos aislados de *K. pneumoniae* en los que el método directo dio una CIM de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y el estandarizado 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y para imipenem uno mayor (*K. pneumoniae*, CIM por método directo de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y por estandarizado 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y otro menor (*K. pneumoniae*, por método directo CIM de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y por estandarizado 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Los aislados que presentaron estos errores fueron diferentes en uno y otro equipo.

La media en horas para obtener un resultado fue de 10,19 para Vitek 2C y de 13,89 para Phoenix (p : NS).

Tabla I. Identificación por medio de Vitek 2C y por Phoenix.

Microorganismo	N	Identificación correcta VTK 2C n (%)	Identificación correcta Phoenix n (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30	30 (100)	30 (100)
<i>Escherichia coli</i>	11	11 (100)	11 (100)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10 (100)	10 (100)
<i>Serratia marcescens</i>	8	8 (100)	8 (100)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	3 (100)	3 (100)
<i>Providencia stuartii</i>	2	2 (100)	2 (100)
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2 (100)	2 (100)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>Pseudomonas putida</i>	1	1 (100)	0 (0)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>Citrobacter farmeri</i>	1	1 (100)	0 (0)
Total	70	70 (100)	68 (97)

Tabla II. Determinación de la sensibilidad antibiótica. Rendimiento comparativo de Vitek 2C y Phoenix.

ATB	Vitek 2C (n: 70)				Phoenix (n: 69)			
	EMM (n)	EM (n)	m (n)	CA (%)	EMM (n)	EM (n)	m (n)	CA (%)
Amikacina	1	0	0	98,5	0	1	0	98,5
Gentamicina	0	0	0	100	0	2	0	97
Cefotaxima	0	1	0	98,5	0	0	0	100
Ceftazidima	0	0	1	98,5	0	0	1	98,5
Meropenem	0	0	2	97	0	2	0	97
Imipenem	0	0	2	97	0	1	1	97
Piperacilina-tazobactam	0	0	3	95,7	0	0	2	97
Ciprofloxacina	0	1	2	95,7	0	0	2	100

EMM: errores muy mayores; EM: errores mayores; m: errores menores; CA: correlación categórica.

Discusión y Conclusiones

La optimización del tratamiento inicial en pacientes con bacteriemia o sepsis y especialmente con *shock séptico* es crítica (3).

Hogan *et al.* (8) analizaron 671 aislamientos de bacilos gram negativos de hemocultivos y el impacto del antibiograma directo desde el frasco de hemocultivo realizado con Vitek 2 y comunicado a un programa de optimización en el uso de antibióticos (PROA). Los resultados rápidos condujeron a una tendencia en el cambio terapéutico (escalamiento o desescalamiento) más rápido (42,2 h *vs.* 53,3 h) aunque no hubo diferencias en tiempo de estadía, insuficiencia renal aguda, mortalidad o diarrea por *Clostridiodes difficile*.

Bruins *et al.* (9) utilizaron Vitek 2 para realizar identificación y sensibilidad de 344 Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa* a partir de hemocultivos positivos por el sistema Bactec; ellos obtuvieron una identificación correcta en el 93% de los aislados y sólo hallaron un 0,8% de errores muy mayores y 0,02% de errores mayores con una correlación esencial del 99,2%.

Wen *et al.* (10) usaron un procedimiento de centrifugación a partir del hemocultivo positivo para preparar el inóculo y determinar la sensibilidad antimicrobiana de bacilos gram negativos y hallaron que la correlación categórica con Vitek 2C fue del 96,1% (0,7% de errores mayores y 1,1% de errores muy mayores), el cual además detectó correctamente a todas las cepas productoras de β -lactamasas de espectro extendido y de carbapenemasas; la identificación fue correcta en el 95,5% de las cepas, y las pocas fallas se debieron a bacilos gram negativos no fermentadores.

Kavipriya *et al.* (11) encontraron un 97% de correlación categórica con Vitek 2 con errores principalmente en gentamicina, piperacilina-tazobactam, aztreonam y cefepima, en tanto que Hogan *et al.* (12) también ha-

llaron problemas con piperacilina-tazobactam (errores muy mayores del 4,8%).

Funke *et al.* (13) usaron el sistema Phoenix (identificación y sensibilidad) a partir de hemocultivos positivos por el sistema Bactec y encontraron un 99% de correlación en la sensibilidad y un 92% en la identificación de bacilos gram negativos.

Blanco *et al.* (14) analizaron 101 hemocultivos positivos con bacilos gram negativos y realizaron su identificación y determinaron su sensibilidad en forma directa a partir de los frascos de hemocultivo positivos por medio del sistema Vitek. El 86% de las enterobacterias fueron identificadas correctamente a nivel de especie y el 14% no se identificaron. El 92,3% de los bacilos gram negativos no fermentadores se identificó correctamente a nivel de especie. La concordancia global en la sensibilidad fue del 92,7% para el sistema Vitek, con errores muy mayores (0,4%), mayores (1,3%) y menores (5,5%) muy por debajo del límite aceptable.

Si bien todos los trabajos anteriores mostraron muy buenos resultados, tanto para Vitek 2 como para Phoenix, hay muy pocos que hayan comparado en paralelo el rendimiento de los dos equipos a partir de un mismo hemocultivo positivo. Horing *et al.* (15) analizaron los resultados obtenidos directamente desde la botella por medio de Phoenix y por medio de Vitek 2 y hallaron para ambos sistemas errores mayores y muy mayores por debajo del 1%.

Todos estos datos son coincidentes con los hallados en el presente trabajo. La identificación correcta fue excelente en ambos casos y solo se documentaron dos errores con Phoenix, correspondientes a un aislado de *Citrobacter farmeri* y a otro de *Pseudomonas putida* que no fueron identificados y son microorganismos infrecuentes en bacteriemias. Respecto a la sensibilidad antibiótica, sólo se produjo un error muy mayor con amikacina y *Acinetobacter baumannii* con Vitek 2C. Cabe destacar que

el fabricante sugiere que para esta combinación de microorganismo y antibiótico debe recurrirse a la confirmación por otro método. Por otro lado, se observaron unos pocos errores mayores con Phoenix y aminoglucósidos y carbapenemes.

El rendimiento de ambos equipos a partir directamente de un hemocultivo positivo es excelente y comparable, tanto en identificación como en la determinación de la sensibilidad antibiótica de bacilos gram negativos, aunque los tiempos para obtener resultados fueron menores con Vitek 2C (casi 4 h) lo que podría tener importancia en el retraso de la comunicación del resultado para laboratorios que no trabajan 24 h los 7 días de la semana. Los resultados en general no necesitan confirmación a menos que haya dudas de la pureza del cultivo (bacteriemias polimicrobianas).

Fuentes de financiación

No se contó con fuentes de financiamiento externas al hospital.

Conflictos de intereses

El Dr. Rolando Soloaga se desempeña además como *Medical Science Liaison* de bioMérieux Argentina.

Correspondencia

Dr. ROLANDO NOEL SOLOAGA
Cátulo Castillo 2975, 5C
1261 CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, Argentina.
Correo electrónico: msoloaga@yahoo.com

Referencias bibliográficas

- Lodise TP, Zhao Q, Fahrback K, Gillard PJ, Martin A. A systematic review of the association between delayed appropriate therapy and mortality among patients hospitalized with infections due to *Klebsiella pneumoniae* or *Escherichia coli*: how long is too long? *BMC Infect Dis* 2018 Dec; 18 (1): 625-37.
- Kumar A. Antimicrobial delay and outcome in severe sepsis. *Crit Care Med* 2014 Dec; 42 (12): e802.
- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Cooper-Smith CM, French C, *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med* 2021 Nov; 47 (11): 1181-247.
- Akerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G, and the RAST Study Group. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. *J Antimicrob Chemother* 2020 Nov; 75 (11): 3230-8.
- Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA; ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis (ESGBIES). Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clin Microbiol Infect* 2020 Feb; 26 (2): 142-50.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters; approved guideline, 3rd ed. CLSI document M23-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, EE.UU.
- International Organization for Standardization. 2007. ISO 20776-2:2007(E). Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 2: evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Hogan CA, Eburni B, Watz N, Kapphahn K, Rigdon J, Mui E, *et al.* Impact of rapid antimicrobial susceptibility testing in gram-negative rod bacteremia: a quasi-experimental study. *J Clin Microbiol* 2020 Aug; 58 (9): e00360-20.
- Bruins M, Bloembergen P, Ruijs G, Wolfhagen M. Identification and susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* by direct inoculation from positive Bactec blood culture bottles into Vitek 2. *J Clin Microbiol* 2004 Jan; 42 (1): 7-11.
- Wen H, Xie S, Liang Y, Liu Y, Wei H, Sun Q, *et al.* Direct identification, antimicrobial susceptibility testing, and extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase detection in gram-negative bacteria isolated from blood cultures. *Infect Drug Resist* 2022 Apr; 15: 1587-99.
- Kavipriya D, Prakash SS, Dhandapani S, Rajshekar D, Sastry AS. Evaluation of the performance of direct susceptibility test by VITEK-2 from positively flagged blood culture broth for gram-negative bacilli. *J Lab Physicians* 2021 Jul; 13 (4): 374-9.
- Hogan CA, Watz N, Budvytiene I, Banaei N. Rapid antimicrobial susceptibility testing by VITEK®2 directly from blood cultures in patients with gram-negative rod bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2019 Jun; 94 (2): 116-21.
- Funke G, Funke-Kissling P. Use of the BD Phoenix automated microbiology system for direct identification and susceptibility testing of gram-negative rods from positive blood cultures in a three-phase trial. *J Clin Microbiol* 2004 Apr; 42 (4): 1466-70.
- Blanco A, Casimir L, Lopardo HA. Identificación y sensibilidad de bacilos gram negativos. Evaluación del uso de un sistema automatizado directamente de los frascos de hemocultivo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; 42 (1): 5-10.
- Höring S, Massarani AS, Löffler B, Rödel J. Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK®-2 and BD Phoenix™ platforms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019 Mar; 38 (3): 471-8.

Recibido: 4 de abril de 2023

Aceptado: 25 de mayo de 2023