

# Evaluación del instrumento automatizado Phoenix en la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico<sup>†</sup>

Reynerio Fagundo-Sierra,\* María Antonieta Cerros-Santos,\* José Pérez-Jáuregui\*\*

## RESUMEN

El empleo de instrumentos automatizados para la identificación y el antibiograma de las bacterias permiten al laboratorio de microbiología obtener resultados rápidos y precisos, reducir errores, identificar cepas poco frecuentes y marcasores específicos de resistencia, entre otras ventajas significativas. El propósito de este estudio fue evaluar el instrumento Phoenix en la identificación y antibiograma de las bacterias de origen clínico. Se emplearon 270 cepas obtenidas de muestras clínicas, las cuales fueron procesadas simultáneamente en los instrumentos Phoenix (BD) y Vitek 2 (bioMérieux), de acuerdo a las especificaciones de cada uno de los fabricantes. El arbitraje de los resultados de identificación discrepantes se realizó con API (bioMérieux) y del antibiograma mediante pruebas de difusión en agar, realizado de acuerdo a las guías del *Clinical and Laboratory Standard Institute*. Phoenix® realizó la identificación correcta a nivel de género y de especie en el 98% y 94%, respectivamente. En el antibiograma de bacilos gramnegativos, Phoenix y Vitek 2 tuvieron una concordancia esencial y categórica del 97% y 92%, respectivamente; mientras que las discrepancias mayores fueron del 1%. En microorganismos grampositivos la concordancia esencial y categórica fue del 99% y 97%, respectivamente, con 0.3% de discrepancias mayores. Los errores muy grandes, grandes y menores en Phoenix fueron de 0.3%, 0.7% y 0.03%, respectivamente. Estos resultados indican que el instrumento Phoenix es confiable para la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico.

**Palabras clave:** Identificación, antibiograma, Vitek 2, Phoenix.

## ABSTRACT

Highly automated identification systems have been introduced to Clinical Microbiology Laboratories to carry out the identification (ID) and antimicrobial susceptibility testing (AST), which have also allowed detecting new and unusual bacterial strains, to obtain quick and accurate outcomes and to reduce laboratory errors. The aim of this study was to evaluate the accuracy of the BD Phoenix System for ID and AST of clinical isolates. A total of 270 fresh clinical isolates were tested in this study. All were processed simultaneously in the instruments Phoenix (Becton Dickinson) and Vitek 2 (bioMérieux) according to the specifications of each one of the manufacturers. The results from API (bioMérieux) were used for the reference method for ID, agar diffusion, performed according to the CLSI guidelines, was the reference method for AST. The Phoenix agreement for the genus and specie level identification was 98% and 94%, respectively. For AST results, the essential and categorical agreement, in gram-negative strains, were 97% and 92% respectively, with 1% of major discrepancy. In gram-positive strains, the essential and categorical agreements were 99% and 97%, with 0.3% of major discrepancy. The very major error rate, major error rate and minor error rate for all bacterial isolated tested in Phoenix were of 0.3%, 0.7% and 0.03% respectively. The Phoenix system had a good accuracy for ID and AST of the current clinical isolations.

**Key words:** Identification, antimicrobial susceptibility test, Vitek 2, Phoenix.

\* Departamento de Microbiología, Carpermor, S.A. de C.V., Laboratorio de Referencia Internacional.

\*\* Dirección de Medicina de Laboratorio, Grupo Diagnóstico Proa.

<sup>†</sup> Trabajo Libre ganador en el XXX Congreso Nacional de Bioquímica Clínica y Explab del 5 - 7 de marzo del 2007 en León, Gto.

Correspondencia:

Dr. Reynerio Fagundo Sierra. Departamento de Microbiología, Carpermor, S.A. de C.V., Laboratorio de Referencia Internacional. Alfonso Herrera No. 75, Col. San Rafael, C.P. 06470, México, D.F. E-mail:reynerio\_fagundo@capermor.com.mx.

Recibido: 03-05-2007

Aceptado: 03-07-2007

## INTRODUCCIÓN

El empleo de instrumentos automatizados permite al laboratorio de microbiología clínica obtener resultados de identificación y antibiograma reproducibles, con rapidez y precisión, ajustándose a guías internacionales actualizadas; identificar cepas poco frecuentes, detectar resultados inconsistentes así como patrones específicos de resistencia, conectarse a la red del laboratorio para la transferencia de datos, disminuyendo la posibilidad de errores de captura (postanalíticos); almacenar y procesar información para hacer un análisis de tendencias anuales de resistencia y aportar datos a redes internacionales.<sup>1</sup> La introducción de Phoenix® (Becton Dickinson [BD]) elevó a cuatro, en el mercado mundial, el número de instrumentos que realizan estas actividades de forma totalmente automatizada.<sup>2</sup>

Se considera que cada laboratorio debe establecer el sistema de identificación y antibiograma que más se acomode a su volumen, población y nivel de ventaja tecnológica (sofisticación), teniendo en cuenta variables como costo-beneficio y margen de error aceptable.<sup>3</sup>

Aunque todos los laboratorios de microbiología deberían evaluar los nuevos instrumentos que reciben para asegurar su precisión y confiabilidad, en México es una práctica poco común, por lo que se considera que este trabajo puede servir como guía a otros laboratorios de nuestro país para realizarla, con vista a asegurar la confiabilidad de sus resultados; así como tener una fuente de información que sea útil para la toma de decisiones.

El propósito de este estudio fue evaluar el instrumento automatizado Phoenix en la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico.

## METODOLOGÍA

**Cepas:** Se emplearon 270 cepas bacterianas (159 enterobacterias, 35 bacilos gramnegativos no enterobacterias y 76 organismos grampositivos), obtenidas de muestras clínicas de pacientes ambulatorios, y recibidas en el laboratorio de microbiología de Carpermor SA de CV. Laboratorio de Referencia Internacional, en el período comprendido de agosto a diciembre de 2006. Todas las cepas se subcultivaron en placas de agar soya tripticasa con 5% de sangre de carnero y se incubaron a 35 °C durante 18-24 horas, posteriormente se inocularon simultáneamente las tarjetas y los paneles de los instrumentos, con diversas colonias bacterianas obtenidas a partir de un cultivo

puro, de acuerdo con las especificaciones de cada uno de los fabricantes.

**Phoenix® (BD):** Se utilizaron para la identificación el panel PID (que por sus siglas en inglés se refiere a la identificación de grampositivos) y el panel NID (para la de gramnegativos), y para el antibiograma los paneles PMIC-100 (que por sus siglas en inglés se refiere al panel para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de grampositivos) y NMIC-101 (para gramnegativos). El inóculo se preparó en el caldo Phoenix ID *broth* SP1 y se ajustó a 0.5 del estándar de McFarland ( $5 \times 10^5$  UFC) utilizando el nefelómetro PhoenixSpec® (BD), posteriormente se adicionaron 25  $\mu$ L de la suspensión bacteriana al caldo Phoenix AST *broth* SP, suplementándolo con una gota del indicador AST Phoenix (indicador de óxido reducción basado en azul de Alamar). Los resultados de susceptibilidad y resistencia fueron interpretados por el sistema de expertos de Phoenix (BDXpert®). El software empleado fue la versión 1.06.

**Vitek 2® (bioMérieux):** Se empleó para la identificación la tarjeta ID-GPC (que por sus siglas en inglés se refiere a la tarjeta de identificación de cocos grampositivos) y la tarjeta ID-GNB (para bacilos gramnegativos) y para el antibiograma las tarjetas AST-GP61 y AST-GN05 (para grampositivos y gramnegativos, respectivamente). El inóculo se preparó en una solución de cloruro de sodio (NaCl) al 0.45% y se ajustó a 0.5 del estándar de McFarland ( $5 \times 10^5$  UFC), utilizando el nefelómetro DensiCheck® (bioMérieux). Los resultados de susceptibilidad y resistencia fueron interpretados por el sistema experto del Vitek 2. El software empleado fue la versión VT2-R04.01.

**Antibióticos:** Se evaluaron 16 antibióticos en gramnegativos y 15 en grampositivos, que fueron los coincidentes en las tarjetas y paneles empleados en ambos instrumentos para cada grupo de microorganismos. En gramnegativos se evaluó: ampicilina, amoxicilina con clavulanato, ticarcilina, ticarcilina con clavulanato, cefalotina, cefuroxima sódica, cefoxitina, ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina, levofloxacina, trimetoprim con sulfametoaxazol, nitrofurantoína y ácido nalidíxico. En grampositivos se evaluó: penicilina, oxacilina, vancomicina, linezolid, eritromicina, clindamicina, rifampicina, gentamicina, gatifloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, tetraciclina, cloranfenicol, quinupristina con dalfopristina y nitrofurantoína.

Se analizaron los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de forma individual para cada una de las combinaciones microorganismo/agen-

te antimicrobiano (2,467 en gramnegativos y 567 en grampositivos), previa a su interpretación por los sistemas de expertos de cada instrumento, categorizándolas como susceptibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) de acuerdo a las guías del *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI),<sup>4</sup> se excluyeron del estudio aquellos antibióticos que, de acuerdo con dichas guías, no estaban indicados para el tratamiento de cada una de las cepas evaluadas. Se revisaron las reglas aplicadas y las acciones tomadas por el BDxpert® en cada muestra para llegar al resultado final. Cada acción tomada por el experto fue comparada con las indicadas por CLSI (M100-S16).<sup>4</sup>

**Arbitraje:** En este estudio se utilizaron las pruebas de arbitraje solamente en la resolución de las discrepancias (en la identificación y/o antibiograma) debido a que es lo recomendado internacionalmente para la evaluación de estos instrumentos.<sup>5</sup>

Los resultados de la identificación bacteriana emitidos por Phoenix fueron comparados en cuanto a su concordancia con los de Vitek 2. Los resultados discrepantes fueron reevaluados en paralelo en ambos instrumentos para descartar errores iniciales (técnicos o mecánicos). Cuando la discrepancia se confirmó, para su resolución se utilizó como método de arbitraje la tira correspondiente de API® (bioMérieux) (API 20E para enterobacterias, API 20NE para bacilos no fermentadores, API Staph para *Staphylococcus spp.* y API 20 Strep para *Streptococcus spp.* y *Enterococcus spp.*), que fueron inoculadas de acuerdo a las especificaciones del fabricante, a partir de un cultivo puro en agar soya tripticasa con 5% de sangre de carnero. La lectura de las tiras se realizó de forma manual y su interpretación se realizó empleando el software APILAB PLUS® (bioMérieux), versión 3.3.3, 1990.

Para la resolución de las discrepancias en el antibiograma, se realizó el arbitraje empleando la prueba de difusión en agar de Mueller-Hinton (BD) con discos de antibióticos (BD), de acuerdo a lo indicado por CLSI.<sup>6</sup>

**Interpretación:** Un resultado de identificación se consideró correcto cuando ambos instrumentos coincidieron en el género y/o la especie. Los resultados que no coincidieron se consideraron discrepantes. El resultado discrepante que coincidió con el obtenido por el método de referencia utilizado para el arbitraje en la identificación, se consideró como el correcto, y el que no coincidió, se consideró un error de identificación a nivel de género y/o especie (y el arbitraje fue a favor del instrumento que emitió el resultado correcto). Se consideró un microorganismo como "no identificado" cuando alguno de los instrumentos no lo identificó (a pesar de encontrarse en su base de datos).

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana emitidos por los dos instrumentos (Phoenix y Vitek 2) fueron comparados y categorizados, de acuerdo al *US Food and Drug Administration* (FDA)<sup>7</sup> como:

- Concordancia esencial (CE): Cuando el resultado de la CMI obtenido en los dos instrumentos era el mismo o tenían una doble dilución de diferencia.
- Concordancia categórica (CC): Cuando el resultado de la interpretación del antibiograma (R, I o S) fue el mismo en los dos instrumentos.
- Discrepancia mayor: Resultado de S en un instrumento y de R en el otro.
- Discrepancia menor: Resultado de I en uno y de S o R en el otro.

Las discrepancias entre los resultados de los instrumentos y el método de referencia empleado para el arbitraje del antibiograma fueron considerados errores y se definieron utilizando la terminología internacional aceptada para este tipo de estudio como:

- Errores muy grandes (Emg): Son los resultados falsos S (S en Vitek 2 o Phoenix y R por el método de referencia). Se consideran así debido a que este antimicrobiano, al tener un resultado de S, puede prescribirse al paciente provocando un fallo terapéutico.
- Errores grandes (Eg): Son los resultados falsos R (R en Vitek 2 o Phoenix y S por el método de referencia). Aunque son errores del instrumento no se consideran muy grandes o muy graves debido a que estos antimicrobianos, al ser reportados como resistentes, no se prescriben al paciente.
- Errores menores (Em): Son resultados de S o R por Vitek 2 o Phoenix y de I por el método de referencia.

**Control de calidad:** Durante el tiempo de realización del estudio se evaluaron las cepas de referencia: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25822) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), con la frecuencia y los criterios de interpretación establecidos por CLSI,<sup>4,8</sup> y sus resultados fueron consistentemente satisfactorios.

**Análisis estadístico:** La descripción de las variables de estudio se presenta en frecuencias y proporciones. Los cálculos de CE, CC, Emg, Eg y Em fueron realizados en Microsoft® Office Excel 2003. Para el cálculo de Emg se utilizó como denominador el nú-

mero de cepas resistentes y para el cálculo de Eg, el número de cepas susceptibles.

## RESULTADOS

Los instrumentos evaluados mostraron en la identificación bacteriana un 90% de concordancia entre sí. Se observaron discrepancias en 26 cepas, en las cuales las pruebas de arbitraje fueron a favor de Vitek 2 en 5 cepas y de Phoenix en 9. En 12 cepas, los resultados del método de referencia no fueron coincidentes con los resultados emitidos por ninguno de los instrumentos.

En las 270 cepas evaluadas, Phoenix realizó la identificación correcta a nivel de género y de especie en el 98% y 94% respectivamente. De los 194 bacilos gramnegativos, identificó correctamente a nivel de especie 186 (96%). En las 8 cepas con errores de identificación, 2 fueron por errores sólo de especie (una cepa de *Acinetobacter iwoffii* fue identificada como *Acinetobacter baumannii* y una de *Aeromonas hydrophila* como *Aeromonas sobria*). En las 6 cepas restantes, los errores fueron por la no identificación de una cepa de *Morganella morganii*, por mala identificación a nivel de género de una cepa de *Acinetobacter baumannii* que fue identificada como *Alcaligenes faecalis*; por dos cepas de *Cryseomonas luteola* que fueron identificadas como *Mannheimia haemolytica* y *Acinetobacter baumanii*; por una cepa de *Eikenella corrodens* identificada como *Alcaligenes faecalis* y por una de *Vibrio parahaemolyticus* como *Pseudomonas luteola*. La identificación correcta a nivel de género en gramnegativos fue del 97%. En grampositivos, las 76 cepas fueron correctamente identificadas a nivel de género (100%), se observaron 9 cepas mal identificadas a nivel de especie en *Staphylococcus spp.* que fueron identificadas en API como; *S. xylosus* (4), *S. epidermidis* (3), *S. hominis* (1) y *S. lentus* (1) (*Cuadro I*).

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en gramnegativos tuvieron una CE del 97% y una CC del 92%. Las discrepancias menores fueron 166 y se presentaron más frecuentemente en ticarcilina con clavulanato (35), cefalotina (25), amoxicilina con clavulanato (22), nitrofurantoína (19) y cefoxitina (18). Las discrepancias mayores fueron 28 (1%) La prueba de arbitraje en estas últimas, determinó como correcto el resultado de Vitek 2 en 15 ocasiones y de Phoenix en 12. En un caso el resultado de la prueba de arbitraje fue intermedio, por lo que el arbitraje no fue favorable a ninguno de los dos instrumentos (*Cuadro II*). En grampositivos, la CE fue del 99% y la

CC del 97%, con 17 discrepancias menores y 2 (0.3%) discrepancias mayores. En estos casos la prueba de arbitraje determinó como correcto el resultado de Vitek 2 en uno de los casos y el de Phoenix en el otro (*Cuadro III*).

Los errores muy grandes, grandes y menores en Phoenix fueron de 4 (0.3%), 12 (0.7%) y 1 (0.03%), respectivamente. Los cuatro Emg se presentaron en ticarcilina (1), levofloxacina (2) y nitrofurantoína (1) (*Cuadro IV*).

El BDXpert de Phoenix aplicó una o más reglas a 92 de las cepas evaluadas, realizando las correspondientes modificaciones al resultado; sin embargo, se observaron dos discrepancias con los criterios de CLSI, en *Acinetobacter baumannii* un resultado de S a la ticarcilina lo convirtió en R y en *Stenotrophomonas maltophilia* realizó la interpretación de 14 antibióticos que no están enlistados para este microorganismo.

En las 270 cepas evaluadas, el BDXpert de Phoenix detectó 17 estafilococos productores de beta lactamasas, 20 estafilococos con resistencia a la meticilina, 5 *Enterococcus faecalis* resistentes a altas dosis de gentamicina y 47 enterobacterias productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), en las cuales además, reportó que fueron confirmadas.

## DISCUSIÓN

En el año 2006 se introdujo en México el instrumento Phoenix, con una capacidad de procesamiento de 100 cepas al mismo tiempo, fácil de usar, no requiere limpieza o mantenimiento interno, todos sus consumibles se pueden almacenar a temperatura ambiente, los paneles se encuentran disponibles para la identificación únicamente, o de forma combinada para la identificación y el antibiograma, permitiendo realizar de forma simultánea ambas determinaciones y no necesita pruebas adicionales externas para la identificación final del microorganismo. Se encuentra acoplado a una estación de trabajo llamada Epicenter®, de fácil comunicación con el usuario por estar en ambiente Windows®XP, que permite personalizar los reportes, hacer filtros y gráficas de gran utilidad estadística y epidemiológica.

En la evaluación de los sistemas automatizados en microbiología otros autores han utilizado cepas de origen clínico o de colección, lo cual debe ser tomado en cuenta, ya que los resultados de ambos tipos de evaluaciones pueden ser muy diferentes. Las cepas de colección se emplean en los centros de referencia que tienen muchas especies que no se aislan rutinariamente en

los laboratorios de análisis clínicos. La evaluación con estas cepas permite indicar el límite de precisión de un instrumento. Por otro lado, la evaluación con cepas aisladas de muestras de pacientes tiene mayor utilidad

en los laboratorios de análisis clínicos, debido a que permite indicar su funcionalidad para la población específica de ese laboratorio.<sup>5</sup> Fue con base a lo anterior que en esta evaluación se emplearon estas últimas de-

**Cuadro I.** Resultados de la identificación correcta de género y de especie en Phoenix.

Identificación por el método de referencia (n)	ID correcta de género n (%)	ID correcta de especie n (%)	Identificación en Phoenix*
<i>Acinetobacter baumannii</i> (5)	5 (100)	5 (100)	
<i>Acinetobacter Iwoffii</i> (5)	4 (80)	3 (60)	<i>A. baumannii</i> y <i>Alcaligenes faecalis</i>
<i>Aeromonas caviae</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Aeromonas hydrophila</i> (1)	1 (100)	0 (0)	<i>Aeromonas sobria</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i> (3)	3 (100)	3 (100)	
<i>Citrobacter freundii</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Citrobacter koseri</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Cryseobacterium gleum</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Cryseomonas iuteola</i> (2)	0 (0)	0 (0)	<i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Acinebacter baumanii</i>
<i>Escherichia coli</i> (122)	122 (100)	122 (100)	
<i>Eikenella corrodens</i> (1)	0 (0)	0 (0)	<i>Alcaligenes faecalis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> (4)	4 (100)	4 (100)	
<i>Klebsiella oxytoca</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (4)	4 (100)	4 (100)	
<i>Morganella morganii</i> (6)	5 (83)	5 (83)	
<i>Pantoea agglomerans</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Proteus mirabilis</i> (7)	7 (100)	7 (100)	
<i>Proteus vulgaris</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (10)	10 (100)	10 (100)	
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Salmonella</i> spp. (4)	4 (100)	4 (100)	
<i>Serratia marcescens</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Shigella flexneri</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Shigella sonnei</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (3)	3 (100)	3 (100)	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)	0 (0)	0 (0)	<i>Pseudomonas luteola</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (38)	38 (100)	38 (100)	
<i>Staphylococcus capitis</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12)	12 (100)	9 (75)	<i>S. capitis</i> , <i>S. hominis</i> y <i>S. simulans</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (3)	3 (100)	3 (100)	
<i>Staphylococcus hominis</i> (3)	3 (100)	2 (67)	<i>S. caprae</i>
<i>Staphylococcus lentus</i> (1)	1 (100)	0 (0)	<i>S. warnerii</i>
<i>Staphylococcus warnerii</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Staphylococcus xylosus</i> (4)	4 (100)	0 (0)	<i>S. hominis</i> (3) y <i>S. capit</i> (1)
<i>Enterococcus avium</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Enterococcus faecalis</i> (3)	3 (100)	3 (100)	
<i>Enterococcus faecium</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Enterococcus raffinosus</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (2)	2 (100)	2 (100)	
<i>Streptococcus salivarius</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
<i>Listeria monocytogenes</i> (1)	1 (100)	1 (100)	
Total gramnegativos (194)	188 (97)	186 (96)	
Total grampositivos (76)	76 (100)	67 (88)	
Total (270)	264 (98)	253 (94)	

\* Detalles de los errores de identificación en Phoenix.

bido a que este es un laboratorio de análisis clínico que procesa fundamentalmente muestras procedentes de pacientes ambulatorios.

En la identificación bacteriana, se obtuvo buena concordancia entre Phoenix y Vitek 2. Al hacer una comparación entre un instrumento nuevo y otro existente, hay que tener en cuenta que la paridad de los resultados no necesariamente indica que el nuevo sea correcto, ya que pueden ignorarse los errores comunes a ambos. La verdadera precisión de un sistema de identificación debe ser juzgada con base a un sistema de referencia para la resolución de las discrepancias.<sup>5</sup>

No está reportado cuál es el número de cepas a evaluar para llegar a conclusiones de concordancia, ni tampoco cuál es el estándar o método de referencia más adecuado. En este estudio se empleó API por ser el sistema de identificación de respaldo utilizado en este laboratorio y porque también ha sido utilizado por algunos de los autores citados en este estudio. Este método empleado para el arbitraje de las 26 cepas con discrepancias en la identificación, indicó que Phoenix realizó la identificación correcta a nivel de género en 263 (97%) de las 270 cepas evaluadas, y a nivel de especie en 253 (94%). Es de destacar que *Cry-*

*seomonas luteola*, *Eikenella corrodens* y *Vibrio parahaemolyticus* son aislamientos poco frecuentes en nuestra población (que tampoco fueron correctamente identificados por Vitek 2). Phoenix realizó la identificación correcta a nivel de especie en el 95% de los aislamientos más comunes en el laboratorio de microbiología, lo cual indicó una buena precisión de este instrumento, si se tienen en cuenta los criterios indicados en la 8<sup>va</sup>. Edición del *Manual of Clinical Microbiology*,<sup>2</sup> que señalan que cuando la identificación correcta es superior al 90% de los aislamientos comunes e inusuales, y superior al 95% en los aislamientos comunes, el sistema de identificación es preciso. En este sentido, Funke y cols.<sup>9</sup> reportan para Vitek 2 un 97.3% de identificación correcta a nivel de especie en gramnegativos.

Diversos autores han evaluado Phoenix para la identificación bacteriana. Eigner y cols.<sup>10</sup> lo compararon con Vitek 2 en la identificación de 141 aislamientos clínicos de enterobacterias utilizando API como método de referencia para la resolución de las discrepancias, obteniendo un 96% de identificación correcta, similar a lo obtenido en este estudio. Carroll y cols.<sup>11</sup> evaluaron Phoenix para la identificación de

**Cuadro II.** Resultados de susceptibilidad a los antibióticos obtenidos por Vitek 2 y Phoenix en gramnegativos.

Antibióticos	Vitek 2				Phoenix				CE (n)	CC (n)	Discrepancias menores (n)	Discrepancias mayores (n)	Correcto (n)						
	Total	S	I	R	S	I	R	(n) (%)											
Ampicilina	151	28	3	123	30		124	151 (100)	148 (98)	3									
Amoxicilina-clavulanato	149	68	38	43	56	36	57	141 (95)	124 (83)	22	3			Vitek 2 (2) Phoenix (1)					
Ticarcilina	158	46	3	109	42	6	110	152 (96)	150 (95)	5	2	1		Vitek 2 (2)* Vitek 2 (1) Phoenix (2)					
Ticarcilina-clavulanato	159	89	31	39	75	25	59	136 (86)	121 (76)	35	2	1		Vitek 2 (2) Phoenix (1)					
Cefalotina	153	38	12	103	21	23	109	148 (97)	127 (83)	25	1			Vitek 2					
Cefuroxima	151	68	16	67	65	16	70	150 (99)	141 (93)	10									
Cefoxitina	146	93	18	35	98	20	28	146 (100)	128 (88)	18									
Ceftazidima	163	114	9	40	110	7	46	161 (99)	154 (94)	7	2			Vitek 2 (2) Phoenix					
Ceftriazone	164	105	4	55	103	3	58	160 (98)	158 (96)	5	1			Vitek 2 (2) Phoenix					
Gentamicina	164	122	4	38	119	5	40	161 (98)	157 (96)	5	2			Vitek 2 (2) Phoenix					
Tobramicina	161	100	13	48	96	12	53	157 (98)	153 (94)	7	1								
Ciprofloxacina	164	86		78	86	1	77	164 (100)	163 (99)	1									
Levofloxacina	167	89	4	74	87	4	76	162 (96)	160 (96)	4	2	1		Vitek 2 (2) Phoenix (1)					
Trimetoprim-sulfametoazol <sup>†</sup>	162	84		78	77		85		155 (96)		7			Vitek 2 (1) Phoenix (6)					
Nitrofurantoína	133	94	22	17	104	11	18	129 (97)	112 (84)	19	1	1		Vitek 2 (2)					
Ácido nalidíxico	122	44		78	44		78	122 (100)	122 (100)										
Total	2,467	1,268	177	1,025	1,213	169	1,088	2,118 (97)	2,273 (92)	166	24	4		Vitek 2 (15) Phoenix (12)					
														28(1%)					

CE: concordancia esencial, CC: concordancia categórica

\* En uno de los casos, el resultado de la prueba de arbitraje fue intermedio y el arbitraje no fue favorable a ninguno de los dos instrumentos

† En trimetoprim con sulfametoazol no se calculó la concordancia esencial debido a que no son comparables las diluciones del antibiótico en ambos instrumentos

175 aislamientos clínicos y 76 cepas de colección de *Enterobacteriaceae*, utilizando pruebas bioquímicas convencionales como método de referencia, obteniendo una identificación correcta a nivel de género y especie del 96% y 94%, respectivamente. Donay y cols.<sup>1</sup> también evaluaron Phoenix utilizando bioquímicas convencionales observando un 93% de identificación correcta para enterobacterias y un 89% para bacilos no fermentadores. Marco y cols.<sup>12</sup> compararon Phoenix con Microscan Walk-Away® en la identificación de 191 bacilos gramnegativos utilizando API como sistema de referencia y observaron que ambos sistemas obtuvieron la misma identificación en el 96% de las cepas, mientras que Phoenix identificó correctamente el 99% de las cepas. Menozzi y cols.<sup>13</sup> evaluaron la identificación en Phoenix empleando 387 aislamientos clínicos y 109 cepas de colección de enterobacterias y bacilos no fermentadores, comparándolos con Vitek 2 y API, obteniendo una identificación correcta del 98% y 99%, respectivamente para ambos grupos bacterianos. En este estudio, los errores de identificación observados en Phoenix para cocos grampositivos se presentaron en 9 cepas de *Staphylococcus spp.* (diferentes de *S. aureus*) y se observaron a nivel de especie. Estos resultados son similares a los obtenidos por Carroll y cols.<sup>14</sup> que eva-

luaron Phoenix para la identificación de 424 aislamientos clínicos de estafilococos y enterococos utilizando bioquímica convencional y el Sistema de Identificación Sherlok® (MIDI) como referencia en la resolución de las discrepancias, obteniendo una identificación correcta a nivel de género y de especie del 99%; ellos observaron que todas las cepas de *S. aureus* y de enterococos fueron correctamente identificadas, los errores en la identificación, al igual que en este estudio, se presentaron a nivel de especie en *Staphylococcus spp.* (diferentes de *S. aureus*).

Layer y cols.<sup>15</sup> compararon Phoenix, Vitek 2 y API en la identificación de 86 aislamientos clínicos y 27 cepas de referencia de *Staphylococcus spp.*, para la resolución de las discrepancias se utilizaron métodos moleculares y los resultados de identificación obtenidos fueron similares en ambos instrumentos (Phoenix y Vitek 2) y API reveló tener mayor precisión, en comparación con los métodos automatizados, en la identificación de estos organismos. Brigante y cols.<sup>16</sup> evaluaron Phoenix comparándolo con API en la identificación de 200 aislamientos clínicos de estreptococos y enterococos, utilizando métodos moleculares como referencia en la resolución de las discrepancias y obtuvieron en Phoenix una identificación correcta global, a nivel de especie, del 90% y del 100% para las cepas de *S. pneumoniae*.

**Cuadro III.** Resultados de susceptibilidad a los antibióticos obtenidos por Vitek 2 y Phoenix en grampositivos.

Antibióticos	Total	Vitek 2			Phoenix			CE (n) (%)	CC (n) (%)	Discrepancias menores (n)	Discrepancias mayores (n)	Correcto
		S	I	R	S	I	R					
		Vitek 2 S (n)	Vitek 2 R (n)	Phoenix R (n)	Phoenix S (n)							
Penicilina	32	4	28	4	28	32 (100)	32 (100)					
Oxacilina	37	20	17	20	17	37 (100)	37 (100)					
Vancomicina	42	42		42		42 (100)	42 (100)					
Linezolid	42	42		42		42 (100)	42 (100)					
Eritromicina	42	25	3	14	24	3	15	41 (98)	40 (95)	2		
Clindamicina	39	25	1	13	26		13	38 (97)	38 (97)	1		
Rifampicina	38	37		1	36	1	1	37 (97)	37 (95)	1		
Gentamicina	38	32	2	4	31		7	37 (97)	35 (86)	2	1	
Gatifloxacina	42	33	2	7	33	6	3	42 (100)	38 (90)	4		Phoenix
Levofloxacina	41	31	2	8	30	3	8	40 (98)	40 (100)	1		
Moxifloxacina	37	32	3	2	33	2	2	37 (100)	36 (95)	1		
Tetraciclina	42	35		7	35	7	42 (100)	42 (100)				
Cloranfenicol	41	37		4	32	4	5	39 (95)	36 (88)	4	1	Vitek 2
Quinupristina-dalfopristina	42	39		3	39	1	2	41 (98)	41 (96)	1		
Nitrofurantoína	12	12			12			12 (100)	12 (100)			
Total	567	446	13	108	439	20	108	559 (99)	548 (97)	17	2	Vitek 2 (1) Phoenix (1) 2 (0.3%)

CE: concordancia esencial, CC: concordancia categórica

Fahr y cols.<sup>17</sup> evaluaron Phoenix en la identificación de 367 aislamientos clínicos y 102 cepas de colección de estafilococos, enterococos y estreptococos utilizando como referencia Vitek 2 y API. La identificación correcta en Phoenix fue de 97%, 98.9% y 100%, respectivamente para cada uno de estos grupos bacterianos; los errores de identificación fueron a nivel de especie en 10 cepas: 8 cepas de *Staphylococcus spp.* (diferentes de *S. aureus*) y 2 de *Enterococcus faecalis*. Por su parte, Marco y cols.<sup>12</sup> evaluaron Phoenix con 136 cocos grampositivos comparándolos con Microscan Walk-Away, reportando una concordancia del 98%. Eigner y cols.<sup>10</sup> reportan para Phoenix una identificación correcta en estafilococos y enterococos, de 97% y 100%, respectivamente.

En las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, se considera que hubo una buena correlación entre

los dos instrumentos, porque la concordancia esencial y categórica fue mayor al 90%.<sup>7</sup> En este estudio fueron del 97% y 92%, respectivamente en gramnegativos y de 99% y 97%, respectivamente en grampositivos. Para evaluar un instrumento, el estándar aceptable indicado por FDA es tener menos del 1.5% de errores muy grandes y menos del 3% de errores grandes. En Phoenix se obtuvieron resultados de 0.3% y 0.7%, para Emg y Eg respectivamente, por lo que se considera que los resultados de susceptibilidad antimicrobiana son confiables, además de que estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores.<sup>1,11,12,14,17</sup> Es de destacar que en este trabajo los resultados indican que Vitek 2 también es confiable, ya que para este instrumento se obtuvo Emg de 1.1% y Eg de 0.1%.

**Cuadro IV.** Errores menores, grandes y muy grandes en Vitek 2 y Phoenix.

	Antibióticos	Vitek 2 n (%)			Phoenix n (%)		
		Em	Eg	Emg	Em	Eg	Emg
Gramnegativos	Ampicilina						
	Amoxicilina-clavulanato			1 (2.3)			2 (3.6)
	Ticarcilina	1 (0.6)			1 (0.6)	1 (2.4)	
	Ticarcilina-clavulanato		1 (1.1)	1 (2.6)		1 (1.3)	
	Cefalotina						1 (4.8)
	Cefuroxima						
	Cefoxitina						
	Ceftazidima					2 (1.8)	
	Ceftriazona				1 (1.8)		
	Gentamicina				1 (2.6)		2 (1.7)
	Tobramicina				1 (2.1)		
	Ciprofloxacina						
	Levofloxacina			1 (1.4)			2 (2.6)
	Trimetoprima-sulfametoxzazol			6 (7.7)		1 (1.3)	
	Nitrofurantoína					1 (1.10)	1 (5.6)
	Ácido nalidíxico						
Grampositivos	Penicilina						
	Oxacilina						
	Vancomicina						
	Linezolid						
	Eritromicina						
	Clindamicina						
	Rifampicina						
	Gentamicina				1 (2.5)		
	Gatifloxacina						
	Levofloxacina						
	Moxifloxacina						
	Tetraciclina						
	Cloranfenicol						1 (3.1)
	Quinupristina-dalfopristina						
	Nitrofurantoína						
Total		1 (0.03)	1 (0.1)	13 (1.1)	1 (0.03)	12 (0.7)	4 (0.3)

Em: errores menores, Eg: errores grandes, Emg: errores muy grandes

En las 159 enterobacterias evaluadas se obtuvieron 47 (30%) cepas reportadas por Phoenix como BLEE confirmadas. Esto se debe a que el BDXpert de Phoenix, a diferencia del resto de los instrumentos automatizados para la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, en el mismo panel que utiliza para el antibiograma realiza la detección de las BLEE, y además su confirmación, utilizando para ello un algoritmo basado en la respuesta fenotípica a diversas cefalosporinas (ceftazidima, ceftazidima con ácido clavulánico, cefotaxima, cefotaxima con ácido clavulánico, cefpodoxima y ceftriaxona con ácido clavulánico). En este sentido, Sanguinetti y cols.<sup>18</sup> evaluaron su capacidad para la detección de este marcador específico de resistencia en 510 cepas de enterobacterias productoras de BLEE, utilizando como referencia la caracterización molecular de estas betalactamasas, reportando alta sensibilidad y especificidad (100% y 99%, respectivamente). Gross y cols.<sup>19</sup> lo evaluaron utilizando como referencia el método de microdilución indicado por CLSI, obteniendo un 98.3% de sensibilidad y 95.8% de especificidad.

Los sistemas de expertos de los equipos automatizados no están exentos de ser evaluados. En este estudio se observó que el BDXpert de Phoenix se ajustó a lo indicado por CLSI, y la interpretación realizada en *Acinetobacter baumannii* con una CMI de 32 µg/mL a la ticarcilina como R, se debió a que el complejo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* tiene resistencia intrínseca a las cefalosporinas de primera generación, aminopenicilinas, carboxipenicilinas, cefamicinas, mezlocilina y piperacilina. La ticarcilina es un antibiótico que pertenece a las carboxipenicilinas y el BDXpert, al tener activada dicha regla, cambió la interpretación a R, independiente de su resultado *in vitro*. La aplicación de estas reglas trae un beneficio adicional al paciente debido a que le permite evitar la terapéutica con dicho antibiótico. En *Stenotrophomonas maltophilia* se observó la emisión de resultados para antibióticos no enlistados en CLSI, debido a que no se había configurado para que los suprimiera del informe final. Cabe señalar que en estos casos, durante el proceso de evaluación del equipo, el usuario debe configurar al BDXpert para que suprima del informe estos antibióticos. Otra de las facilidades de este instrumento es que se pueden personalizar las reglas, activarlas y desactivarlas, ejecutarlas manualmente o de forma automática. Por otra parte, el BDXpert indicó en el informe que este microorganismo tiene resistencia intrínseca a los aminoglucósidos, aminopenicilinas, carbapenemos y cefalosporinas de primera y segunda generación, lo cual permite evi-

tar terapéuticas ineffectivas. En este sentido, Callihan y cols.<sup>20</sup> evaluaron la funcionalidad del BDXpert para la interpretación del antibiograma ajustándose a las guías de CLSI (M100-S12), observando que este sistema de expertos reportó los mensajes de alerta adecuados, haciendo las correcciones correspondientes al resultado final de todas las cepas en las cuales se detectaron marcadores específicos de resistencia, al igual a lo observado en esta evaluación.

No fue objeto de este trabajo evaluar los tiempos invertidos por Phoenix en la identificación y antibiograma. Al respecto Eigner y cols.<sup>10</sup> reportan que la media del tiempo empleado en la manipulación de las muestras fue de  $20.9 \pm 1.8$  minutos y que la media del tiempo para tener los resultados de todos los grupos bacterianos fue de  $727 \pm 162$  minutos.

Es de destacar que durante el período de evaluación se pudo constatar los beneficios que ofrece este instrumento y se procedió a su implementación como parte del procedimiento analítico utilizado en el laboratorio debido a que estos resultados indican que el sistema Phoenix es confiable para la identificación y antibiograma de bacterias de origen clínico.

## REFERENCIAS

1. Donay J, Mathieu D, Fernandes P, Prégermain C, Bruel P, et al. Evaluation of the Automated Phoenix System for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1542-1546.
2. O'Hara CM. Evaluation of the Phoenix 100 ID/AST System and NID panel for identification of *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, and commonly isolated nonenteric gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 928-933.
3. O'Hara CM. Manual and automated instrumentation for identification of *Enterobacteriaceae* and other aerobic gram-negative bacilli. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 147-162.
4. Clinical and Laboratory Standard Institute. CLSI. *Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement*. 2006; 26: M100-516.
5. Miller JM. Evaluating biochemical identification systems. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1559-1561.
6. Clinical and Laboratory Standard Institute. CLSI. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; approved standard-ninth edition*. 2006; 26: M2-A9.
7. Center for Devices and Radiological Health. *Guidelines on review criteria for assessment of antimicrobial susceptibility devices*. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Washington, D.C; 2000.
8. Clinical and Laboratory Standard Institute. CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-7<sup>th</sup>ed. 2006; 26: M7-A7
9. Funke G, Funke-Kissling P. Evaluation of the new Vitek 2 card for identification of clinically relevant Gram-Negative rods. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4067-4071.

10. Eigner U, Schmid A, Wild U, Bertsch D, Fahr A. Analysis of the comparative workflow and performance characteristics of the Vitek2 and Phoenix Systems. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3829-3834.
11. Carroll K, Glanz BD, Borek AP, Burger C, Bhally HS, et al. Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3506-3509.
12. Marco F, Jurado A, Jiménez de Anta MT. Evaluación del sistema Phoenix para la identificación y determinación de la susceptibilidad de aislamientos clínicos. Estudio comparativo con el sistema Microscan. *Rev Esp Quimioterap* 2004; 17: 169-176.
13. Menozzi MG, Eigner U, Covani S, Rossi S, Somenzi P, et al. Two-center collaborative evaluation of performance of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 4085-4094.
14. Carroll K, Borek AP, Burger C, Glanz B, Bhally H, Heneciak S, et al. Evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of staphylococci and enterococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2072-2077.
15. Layer F, Ghebremedhin B, Moder K, Konig W, Konig B. Comparative study using various methods for identification of *Staphylococcus* species in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2824-2830.
16. Brigante G, Luzzaro F, Bettaccini A, Lombardi G, Meacci F, et al. Use of the Phoenix automated system for identification of *Streptococcus* and *Enterococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3263-3267.
17. Fahr AM, Eigner U, Armbrust M, Caganic A, Dettori G, Chezzi C, et al. Two-center collaborative evaluation of the performance of the BD Phoenix Automated Microbiology System for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1135-1142.
18. Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T, Ciccaglione D, Romano L, Fiori B, et al. Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD Phoenix Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase detection method. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1463-1468.
19. Gross R, Horling U, Eigner U, Fahr A. The importance of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) screening test in rapid automated antimicrobial susceptibility testing (AST). As presented at the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), 2001.
20. Callihan D, Pollitt J, Turng B, Wiles T. BDXpertTM System: Implementing NCCLS and SFM rules in a knowledge base for interpretation of antibiotic susceptibility testing results. As presented at the 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), 2003.