

Original

Evaluación del sistema *Phoenix* para identificación y determinación de la sensibilidad de aislamientos clínicos. Estudio comparativo con el sistema *Microscan*

F. Marco, A. Jurado y M.T. Jiménez de Anta

Servicio de Microbiología, IDIBAPS, Hospital Clínic, Barcelona

RESUMEN

Se evalúa el nuevo sistema Phoenix (BD Diagnostic Systems), en comparación con el sistema Microscan WalkAway-40, para identificar y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de aislamientos clínicos habituales. Del total de los 327 microorganismos estudiados, 191 eran bacilos gramnegativos (187 de la familia Enterobacteriaceae y 4 *Aeromonas spp.*) y 136 cocos grampositivos (27 *Staphylococcus aureus*, 53 *Staphylococcus coagulans* negativos, 45 enterococos y 11 estreptococos beta hemolíticos). La concordancia entre los dos sistemas con los bacilos gramnegativos y los cocos grampositivos fue del 95,8% y el 96,3%, respectivamente. El grado de concordancia con *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.* fue del 100%. Globalmente, el grado de concordancia en cuanto a género fue >99%. En siete de las ocho discrepancias observadas en los bacilos gramnegativos, el resultado del sistema Phoenix era correcto, mientras que, en los cocos grampositivos, en tres de las cinco discrepancias el sistema Phoenix era el correcto. Se analizaron un total de 3688 combinaciones de antibiótico y microorganismo con ambos sistemas. Para los bacilos gramnegativos, la concordancia esencial de los resultados de CMI fue del 98,5%, mientras que la concordancia de categoría fue del 95,9%. De las 13 discrepancias observadas, los resultados del sistema Phoenix eran correctos en 11. En los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus*, la concordancia esencial fue del 96,4% y el 99%, respectivamente, y la concordancia de categoría del 94,7% y el 96,1%, respectivamente. Se observaron cinco discrepancias en *Staphylococcus*, que se resolvieron a favor del sistema Phoenix en dos ocasiones. Estos resultados indican que el sistema Phoenix es rápido y fiable para identificar y determinar la sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos aislados en el trabajo diario de un laboratorio de microbiología clínica.

Palabras clave: Sistema Phoenix - Microscan - Pruebas sensibilidad

Evaluation of the Phoenix system for identifying and determining the susceptibility of clinical isolates. Comparative study with the Microscan system

SUMMARY

The Phoenix™ system (BD Diagnostic Systems), a rapid ID/AST system, was compared with the MicroScan WalkAway-40 system for accuracy of identification and antimicrobial susceptibility test results. The 327 bacterial isolates, were comprised of 191 Gram-negative bacilli (187 Enterobacteriaceae and 4 *Aeromonas spp.*) and 136 Gram-positive cocci (27 *Staphylococcus aureus*, 53 coagulase-negative staphylococci, 45 enterococci and 11 beta haemolytic streptococci). The overall rate of agreement between the two systems for species level identification was 95.8% and 96.3% for Gram-negative bacilli and Gram-positive cocci, respectively. *Enterococcus* and *Streptococcus* species both achieved a 100% rate of species level agreement. The genus level agreement was >99% overall. Arbitration of the 8 Gram-negative bacilli disagreements resolved with 7 in agreement with the Phoenix identification. For the 5 Gram-positive cocci disagreements, 3 resolved in agreement with Phoenix. Overall, 3688 antimicrobial/organism combinations were evaluated in both systems. For Gram-negative isolates, the rate of essential agreement for the MICs was 98.5%, while the categorical agreement rate was 95.9%. Arbitration of 13 Gram-negative disagreements resolved with 11 in agreement with the Phoenix system. For *Staphylococcus spp.* and *Enterococcus spp.* isolates, the essential agreement rates were 96.4% and 99% respectively. Categorical agreement rates for both genera were 94.7% and 96.1%, respectively. Arbitration of 5 staphylococci disagreements resolved with 2 in agreement with Phoenix system. Our results show that the Phoenix system is a rapid and reliable system for both identification and antimicrobial susceptibility testing of common clinical isolates.

Key words: Phoenix system - Microscan - Susceptibility testing

INTRODUCCIÓN

En el quehacer diario de un laboratorio de microbiología clínica, la identificación y determinación de la sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos aislados en las diferentes muestras recibidas representa una de las mayores cargas de trabajo. En teoría, el empleo de un sistema automático que realice estas dos tareas y permita obtener los resultados de forma más rápida, va a repercutir favorablemente en la disminución del volumen de trabajo del laboratorio, así como en la mejora del tratamiento del paciente al poder escoger el antibiótico más adecuado (1, 2). No obstante, cuando se elige un sistema automático es fundamental que tenga un elevado grado de fiabilidad en los dos aspectos comentados: identificación y determinación de la sensibilidad. La ausencia de esta cualidad anula la ventaja que representa la rapidez en la obtención de resultados y repercute de forma negativa en el cuidado del paciente.

En este estudio se evalúa un nuevo sistema automático, *Phoenix* (BD Diagnostic Systems, Sparks, Maryland, EE.UU.), que permite realizar en un mismo panel la identificación del microorganismo y la determinación de su sensibilidad a diferentes antibióticos. Los resultados obtenidos se compararon con los del sistema *Microscan WalkAway-40* (Dade Behring), empleado en nuestro laboratorio para identificar y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de las diferentes especies de la familia *Enterobacteriaceae* y de los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus*. No se incluyeron en esta comparación *Pseudomonas* spp. ni otros bacilos gramnegativos no fermentadores ya que no se utilizaba el sistema *Microscan* para identificarlos ni para determinar su sensibilidad a los antibióticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Microorganismos

Se incluyeron en el estudio 327 microorganismos aislados de diferentes muestras remitidas al laboratorio. Menos de un 5% de las cepas evaluadas procedían de nuestro archivo y presentaban mecanismos de resistencia que habían sido caracterizados previamente (*mecA*, *vanA*, *vanB*). De los 191 bacilos gramnegativos, 187 eran miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y cuatro eran *Aeromonas* spp. De los 136 cocos grampositivos, 80 pertenecían al género *Staphylococcus*, 45 al género *Enterococcus* y 11 eran estreptococos beta hemolíticos.

Sistema *Microscan*

Los paneles *Urine Combo 6I* y *Combo Pos ISA* se procesaron según las indicaciones del fabricante y se incubaron en el sistema *Microscan Walk-Away 40*. Una vez efec-

tuada la lectura automática de los paneles, los resultados se comprobaron visualmente.

Sistema *Phoenix*

El sistema *Phoenix* es un sistema automático que permite la incubación simultánea de hasta cien paneles para identificación bacteriana y determinación de la sensibilidad a los antibióticos, aunque es posible emplear paneles sólo para identificación bacteriana o para estudios de sensibilidad. En nuestro estudio utilizamos dos tipos de paneles, gramnegativo NMIC/ID-1 y grampositivo PMIC/ID-1, los cuales contenían 51 pocillos con diversos sustratos para la identificación bioquímica y 85 pocillos destinados a determinar la sensibilidad a los antibióticos. Para la inoculación de los paneles se preparó, en un tubo con 4,5 ml de caldo de identificación (ID), una suspensión bacteriana ajustada a un 0,5-0,6 de McFarland con la ayuda de un nefelómetro (CrystalSpec, BD). A continuación se transfirieron 25 µl de esta suspensión al tubo con caldo para determinar la sensibilidad a los antibióticos (AST), al que previamente se había dispensado una gota de indicador (Alamar Blue), y se mezcló el contenido invirtiendo el tubo cinco veces. En el siguiente paso se inoculó la parte izquierda del panel con el caldo ID y la parte derecha con el caldo AST. Una vez sellados los paneles con los tapones correspondientes, se introdujeron en el instrumento para su procesamiento. El sistema efectúa lecturas de los paneles cada 20 minutos, no necesita ninguna información adicional (por ejemplo catalasa, oxidasa o hemólisis) y la identificación se considera finalizada tan pronto como se alcanza una probabilidad >90%. La interpretación final de los resultados de sensibilidad se realiza mediante un sistema experto que, además, informa de los posibles mecanismos de resistencia presentes (cepa productora de betalactamasa de espectro extendido, resistencia a los glucopéptidos tipo VanA o VanB, etc.).

Antimicrobianos

En las Tablas 1 y 2 se pueden ver los antibióticos y las concentraciones probadas por los dos sistemas según los microorganismos evaluados. No se incluyeron en la comparación los resultados de sensibilidad de *Aeromonas* spp., *Enterococcus gallinarum/casseliflavus* ni estreptococos beta hemolíticos.

Método de referencia

Cuando se halló una discrepancia en la identificación de los microorganismos o en los resultados de sensibilidad,

Tabla 1. Antibióticos y concentraciones (mg/l) evaluados por los sistemas Phoenix y Microscan para bacilos gramnegativos de la familia Enterobacteriaceae y Aeromonas spp.

Antibiótico	Concentraciones	
	Phoenix	Microscan
Amikacina	4-64	4-32
Amoxicilina-ác. clav.	2/1-32/16	8/4-16/8
Ampicilina	2-32	1-16
Cefazolina	4-32	2-16
Cefotaxima	2-32	2-8,32
Ceftazidima	4-32	2-16
Cefuroxima	4-32	2-16
Ciprofloxacino	0,25-4	1-2
Gentamicina	1-16	2-8
Nitrofurantoína	32-128	32-64
Piperacilina	4-128	8-16,64
Tobramicina	1-16	2-8
Cotrimoxazol	0,5/9,5-16/304	2-38

Tabla 2. Antibióticos y concentraciones (mg/l) evaluadas por los sistemas Phoenix y Microscan para cocos grampositivos de los géneros Enterococcus y Staphylococcus.

Antibiótico	Concentraciones	
	Phoenix	Microscan
Cefazolina	2-16	4-16
Ciprofloxacino	1-4	1-2
Clindamicina	0,5-8	0,5-2
Estreptomina, alta resistencia	1000	1000
Gentamicina	1-16	4-8
Gentamicina, alta resistencia	500	500
Meropenem	2-8	4-8
Ofloxacino	1-4	2-4
Oxacilina	0,5-4	0,25, 1-2
Penicilina	0,06-16	0,12-8
Rifampicina	1-4	1-2
Tetraciclina	0,5-16	4-8
Teicoplanina	1-32	4-16
Cotrimoxazol	2/38-16/304	2-38
Vancomicina	0,5-32	2-16

se repitieron de nuevo los paneles por duplicado y por los dos sistemas. En el supuesto de persistir la discrepancia en la identificación se utilizó el sistema API (bioMérieux) como método de referencia, complementado, si era preciso, con pruebas convencionales manuales incluyendo la seroaglutinación de *Salmonella* y *Shigella*. Para resolver las discrepancias en los resultados de sensibilidad se empleó el método de microdilución en caldo de Mueller-Hinton según las recomendaciones del NCCLS (3).

Control de calidad

Durante el tiempo de realización del estudio se evaluaron diariamente con el sistema Phoenix las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 25922 y ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y ATCC 13883, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y 29213, y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y ATCC 49533. Con el sistema Microscan los controles se efectuaron según el hábito normal del laboratorio.

Definiciones

Usando terminología internacional aceptada para este tipo de estudios, se consideró que existía concordancia esencial cuando el resultado de la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenido con los dos sistemas (*Phoenix* y *Microscan*) era el mismo o una dilución más o menos; concordancia de categoría si el resultado de la interpretación de la CMI obtenida con ambos sistemas coincidía con los criterios interpretativos del NCCLS (sensible, intermedio, resistente); error muy grave si el resultado del sistema *Phoenix* era "sensible" y el del método *Microscan* y el de referencia era "resistente"; error grave cuando el resultado del sistema *Phoenix* era "resistente" y el del método *Microscan* y el de referencia era "sensible"; y finalmente se consideró error menor si el resultado del sistema *Phoenix* era "intermedio" y con el método *Microscan* y el de referencia era "sensible" o "resistente", o a la inversa, "sensible" o "resistente" con el método *Phoenix* e "intermedio" con el método *Microscan* y el de referencia.

RESULTADOS

Identificación bacteriana

Del total de 191 bacilos gramnegativos evaluados en el estudio, 187 pertenecían a la familia *Enterobacteriaceae* y cuatro eran *Aeromonas* spp. (Tabla 3). Entre las diferentes enterobacterias estudiadas se incluyeron las especies recuperadas con mayor frecuencia en la práctica diaria. Ambos sistemas, *Phoenix* y *Microscan*, obtuvieron la misma identificación en 183 (95,8%) cepas. De los ocho resultados discrepantes, dos lo fueron de género al identificar el sistema *Microscan* una cepa de *Aeromonas hydrophila* grupo como *Vibrio fluvialis*, y otra de *Shigella flexneri* como *E. coli*. De las otras seis cepas, cinco fueron identificadas incorrectamente por el sistema *Microscan* (tres *Citrobacter braakii* como *Citrobacter freundii*, una *Aeromonas caviae* como *Aeromonas* spp. y una *S. flexneri* como *Shigella* spp.). La única cepa de *Serratia liquefaciens* evaluada fue identi-

Tabla 3. Resultados comparativos de la identificación de bacilos gramnegativos con el sistema *Phoenix* y el sistema *Microscan*.

Microorganismo (n)	Concordancia especie (%)	Discrepancias (correcto)
<i>Aeromonas hydrophila</i> grupo (3)	2 (67)	<i>Phoenix</i> ^a
<i>Aeromonas sobria</i> (1)	0 (0)	<i>Phoenix</i> ^b
<i>Citrobacter braakii</i> (3)	0 (0)	<i>Phoenix</i> ^c
<i>Citrobacter freundii</i> (4)	4 (100)	
<i>Citrobacter koseri</i> (9)	9 (100)	
<i>Enterobacter aerogenes</i> (10)	10 (100)	
<i>Enterobacter cloacae</i> (19)	19 (100)	
<i>Escherichia coli</i> (19)	19 (100)	
<i>Klebsiella oxytoca</i> (15)	15 (100)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (22)	22 (100)	
<i>Morganella morganii</i> (17)	17 (100)	
<i>Proteus mirabilis</i> (20)	20 (100)	
<i>Proteus vulgaris</i> (4)	4 (100)	
<i>Providencia stuartii</i> (5)	5 (100)	
<i>Salmonella</i> spp. (18)	18 (100)	
<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	0 (0)	<i>Microscan</i> ^d
<i>Serratia marcescens</i> (15)	15 (100)	
<i>Shigella flexneri</i> (3)	1 (33)	<i>Phoenix</i> ^e
<i>Shigella sonnei</i> (2)	2 (100)	
<i>Yersinia enterocolitica</i> (1)	1 (100)	
Total (191)	183 (95,8)	

^aIdentificación *Microscan*: *Vibrio fluvialis*. ^bIdentificación *Microscan*: *Aeromonas* spp. ^cIdentificación *Microscan*: *Citrobacter freundii*. ^dIdentificación *Phoenix*: *Serratia marcescens*. ^eIdentificación *Microscan*: *Escherichia coli* y *Shigella* spp.

ficada de forma errónea como *Serratia marcescens* por el sistema *Phoenix*. Una vez corregidas las discrepancias, el sistema *Phoenix* identificó correctamente 190 cepas (99,5%) y el sistema *Microscan* 184 (93,3%).

La concordancia observada entre los dos sistemas al evaluar los resultados obtenidos con los cocos grampositivos fue del 96,3% (Tabla 4). Los cinco resultados discrepantes se produjeron al identificar erróneamente cinco cepas de estafilococos, tres de ellas el sistema *Microscan* (un *S. haemolyticus* como *S. simulans*, un *S. lugdunensis* como *S. hominis* y un *S. lugdunensis* como *S. haemolyticus*) y dos el sistema *Phoenix* (un *S. lugdunensis* como *S. haemolyticus* y un *S. saprophyticus* como *S. aureus*). La concordancia final, después de corregir las discrepancias, fue del 98,5% para el sistema *Phoenix* y del 97,8% para el sistema *Microscan*.

Sensibilidad a los antibióticos

Se analizaron un total de 3688 combinaciones de antibiótico y microorganismo: 2431 con la familia *Enterobacte-*

Tabla 4. Resultados comparativos de la identificación de cocos grampositivos obtenida por el sistema *Phoenix* y el sistema *Microscan*.

Microorganismo (n)	Concordancia especie (%)	Discrepancias (correcto)
<i>Enterococcus avium</i> (1)	1 (100)	
<i>Enterococcus faecalis</i> (21)	21 (100)	
<i>Enterococcus faecium</i> (19)	19 (100)	
<i>E. gallinarum/casseliflavus</i> (4)	4 (100)	
<i>Staphylococcus aureus</i> Oxa-S (17)	17 (100)	
<i>Staphylococcus aureus</i> Oxa-R (10)	10 (100)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (18)	18 (100)	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (15)	14 (93)	<i>Phoenix</i> ^a
<i>Staphylococcus hominis</i> (1)	1 (100)	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> (10)	7 (70)	<i>Phoenix</i> (2) ^b , <i>Microscan</i> (1) ^c
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (8)	7 (88)	<i>Microscan</i> ^d
<i>Staphylococcus sciuri</i> (1)	1 (100)	
<i>Streptococcus agalactiae</i> (9)	9 (100)	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (2)	2 (100)	
Total enterococos (45)	45 (100)	
Total estafilococos (80)	75 (94)	<i>Phoenix</i> (3), <i>Microscan</i> (2)
Total estreptococos (11)	11 (100)	
Total (136)	131 (96,3)	<i>Phoenix</i> (3), <i>Microscan</i> (2)

^aIdentificación *Microscan*: *S. simulans*. ^bIdentificación *Microscan*: *S. haemolyticus*, *S. hominis*. ^cIdentificación *Phoenix*: *S. haemolyticus*. ^dIdentificación *Phoenix*: *S. aureus*.

riaceae, 965 con *Staphylococcus* spp. y 292 con *Enterococcus* spp. Los resultados de sensibilidad a los antibióticos obtenidos con el sistema *Phoenix*, en comparación con el sistema *Microscan*, en 187 cepas de la familia *Enterobacteriaceae*, se exponen en la Tabla 5. Globalmente, la concordancia esencial de los resultados de CMI obtenidos por los dos sistemas fue del 98,5%, mientras que la concordancia de categoría fue del 96,2%. En 12 casos, la CMI obtenida con el sistema *Phoenix* correspondía a la categoría sensible y en cambio con el sistema *Microscan* era resistente. Sólo en una ocasión ocurrió el caso contrario: *Phoenix* resistente y *Microscan* sensible. El método de referencia confirmó que en 11 ocasiones el resultado del sistema *Phoenix* era correcto y en dos el sistema *Microscan*, lo cual se corresponde con un error muy grave y un error grave del sistema *Phoenix* y 11 errores graves del sistema *Microscan*. Se observaron errores menores con los dos sistemas, pero estos resultados están muy influenciados porque en los paneles *Microscan* algunos antibióticos sólo tenían una o dos diluciones, como fue el caso del cotrimoxazol, amoxicilina-

Tabla 5. Comparación de los resultados de sensibilidad a los antibióticos obtenidos por los sistemas Phoenix y Microscan en la familia Enterobacteriaceae (187 cepas).

Antibiótico	Phoenix			Microscan			Concord. esencial n (%)	Concord. de categoría n (%)	Phoenix S Microscan R (n)	Phoenix R Microscan S (n)	Sistema correcto (n)
	S	I	R	S	I	R					
Ampicilina	38	8	145	36	6	145	183 (97,8)	186 (99,4)	1		Phoenix (1)
Amoxicilina-ácido clav.	98	7	82	100	10	77	184 (98,3)	176 (94,1)	2		Phoenix (2)
Piperacilina	120	11	53	112	10	62	178 (95,1)	173 (92,5)	6		Phoenix (6)
Cefazolina	93	4	90	93	5	89	185 (98,9)	180 (96,2)			
Cefuroxima	110	5	72	109	9	69	184 (98,3)	177 (94,6)			
Ceftazidima	162	2	23	159	3	25	184 (98,3)	185 (98,9)	1		Phoenix (1)
Cefotaxima	160	5	4	161	4	22	182 (97,3)	185 (98,9)			
Amikacina	186		1	186		1	187 (100)	187 (100)			
Gentamicina	169	3	15	169	2	16	187 (100)	184 (98,3)			
Tobramicina	165	11	11	173	3	11	187 (100)	180 (96,2)			
Ciprofloxacino	155	7	25	154	11	22	185 (98,9)	179 (95,7)			
Nitrofurantoína	91	59	37	80	41	66	185 (98,9)	164 (87,7)			
Cotrimoxazol*	145		42	146		41	184 (98,3)	185 (98,9)	2	1	Phoenix (1)
Total	1694	126	611	1680	109	642	2395 (98,5)	2344 (96,2)	12	1	Microscan (2)

* Se ha incluido en el estudio de concordancia esencial a pesar de que en los paneles Microscan sólo existía una concentración.

Tabla 6. Comparación de los resultados de sensibilidad a los antibióticos obtenidos por los sistemas Phoenix y Microscan en Staphylococcus spp. (79 cepas).

Antibiótico	Phoenix			Microscan			Concord. esencial n (%)	Concord. de categoría n (%)	Phoenix S Microscan R (n)	Phoenix R Microscan S (n)	Sistema correcto (n)
	S	I	R	S	I	R					
Penicilina	16		63	16		63	68 (86,1)	79 (100)			
Oxacilina	39		40	39		40	79 (100)	79 (100)			
Cefazolina	39		40	39		40	73 (92,4)	79 (100)			
Meropenem*	18		30	18		30	41 (85,4)	48 (100)			
Gentamicina	48		31	48		31	79 (100)	79 (100)			
Clindamicina	47	1	31	46	1	32	78 (98,7)	78 (98,7)	1		Microscan (1)
Ciprofloxacino	42	1	36	43		36	79 (100)	78 (98,7)			
Ofloxacino**	21	1	27	22		27	48 (98)	48 (98)			
Rifampicina	69		10	69		10	77 (97,8)	77 (97,8)	1	1	Phoenix (1)
Tetraciclina	71		8	71	1	7	79 (100)	78 (98,7)			
Teicoplanina	74	2	3	74	5		79 (100)	74 (93,7)			
Vancomicina	79			79			79 (100)	79 (100)			
Cotrimoxazol***	56		23	59		20	76 (96,2)	76 (96,2)	1	2	Phoenix (1) Microscan (2)
Total	618	5	343	622	7	337	935 (96,5)	952 (98,5)	3	3	

*Sólo se estudiaron 48 cepas.

**Sólo se estudiaron 49 cepas.

***Se ha incluido en el estudio de concordancia esencial a pesar de que en los paneles Microscan sólo existía una concentración.

ácido clavulánico, ciprofloxacino y nitrofurantoína. De todas formas, considerados en su globalidad, el porcentaje obtenido fue inferior al 4% (datos no mostrados).

En la Tabla 6 se muestra la comparación de los resultados de sensibilidad obtenidos con ambos sistemas en el gé-

nero *Staphylococcus*. La concordancia esencial de los resultados de CMI con los dos sistemas fue del 96,5%, mientras que la concordancia de categoría fue del 98,5%. En aquellos casos, en especial *S. lugdunensis* y *S. saprophyticus*, en que podían existir dudas en la interpretación de la

Tabla 7. Comparación de los resultados de sensibilidad a los antibióticos obtenidos por los sistemas *Phoenix* y *Microscan* en *Enterococcus* spp. (40 cepas).

Antibiótico	<i>Phoenix</i>			<i>Microscan</i>			Concord. esencial n (%)	Concord. de categoría n (%)	<i>Phoenix</i> S <i>Microscan</i> R (n)	<i>Phoenix</i> R <i>Microscan</i> S (n)	Sistema correcto (n)
	S	I	R	S	I	R					
Penicilina	23		17	21		19	38 (95)	38 (95)	2		<i>Phoenix</i> (1) <i>Microscan</i> (1)
Estreptomina AR*	20		20	20		20	40 (100)	40 (100)			
Gentamicina AR*	19		21	20		20	39 (97,5)	39 (97,5)		1	<i>Phoenix</i> (1)
Ciprofloxacino	14	2	24	14	3	23	40 (100)	37 (92,5)			
Ofloxacino**	3	1	8	3		9	12 (100)	11 (91,7)			
Tetraciclina	18		22	17		23	40 (100)	38 (97,5)	1		<i>Phoenix</i> (1)
Teicoplanina	37	1	2	37		3	40 (100)	39 (95)			
Vancomicina	36		4	36		4	40 (100)	40 (100)			
Total	170	4	121	168	3	121	290 (99)	282 (96,1)	3	1	

*Se han incluido en el estudio de concordancia esencial a pesar de que sólo se analiza una concentración.

**Sólo se estudiaron 12 cepas.

oxacilina debido a que los paneles *Microscan* no contenían la concentración de 0,5 mg/l, se consideró como valor de referencia la presencia o no del gen *mecA*. De las 79 cepas estudiadas, con el sistema *Phoenix* se observó en tres de ellas un resultado de CMI correspondiente a la categoría sensible y con el sistema *Microscan* resistente. En otras tres cepas el resultado fue resistente con *Phoenix* y sensible con *Microscan*. Después de analizar estas discrepancias con el método de referencia, los resultados del sistema *Phoenix* fueron correctos en dos de las cepas y los del sistema *Microscan* en tres cepas, lo cual supone un error muy grave y dos errores graves con el sistema *Phoenix*, y un error muy grave y un error grave con el sistema *Microscan*. La cepa restante (*S. aureus* resistente a la oxacilina) fue informada como resistente a la rifampicina (4 mg/l) por el sistema *Phoenix*, sensible (≤ 1 mg/l) por el *Microscan* e intermedia (2 mg/l) por el método de referencia. En esta ocasión, el porcentaje de errores menores fue inferior al 1% (datos no mostrados).

Finalmente, en la Tabla 7 se comparan los resultados de sensibilidad de 40 cepas de *Enterococcus* spp. El porcentaje de concordancia esencial fue del 99%, mientras que la concordancia de categoría fue del 96,1%. En tres ocasiones se obtuvo como resultado sensible con el sistema *Phoenix* y resistente con *Microscan*, y en uno resistente con *Phoenix* y sensible con *Microscan*. Tras la corrección de los resultados mediante el método de referencia se observó un error muy grave con el sistema *Phoenix*, y un error muy grave y dos errores graves con el sistema *Microscan*. Los errores menores fueron menos del 3% (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

La posibilidad de realizar de forma simultánea la identificación bacteriana y la determinación de la sensibilidad a los antibióticos es una clara ventaja de cualquier sistema automático o semiautomático (4). El sistema *Phoenix*, desarrollado recientemente, realiza estas dos tareas de forma automática sin requerir pruebas adicionales para identificar los microorganismos ni una incubación de 18 a 20 horas para obtener los resultados de sensibilidad. El sistema interpreta los patrones bioquímicos según una amplia base de datos e informa del resultado tan pronto como se obtiene una probabilidad superior al 90%. La mayor parte de los microorganismos son identificados en dos a cuatro horas, aunque en ocasiones puede requerirse una incubación más prolongada. En esta evaluación, aunque no era objeto de estudio, todas las especies de la familia *Enterobacteriaceae* y *Enterococcus* spp., y todas las cepas de *S. aureus*, fueron identificadas en menos de cuatro horas. Los estafilococos coagulasa negativos, en cambio, requirieron seis a diez horas. Estos resultados son parecidos a los comunicados por otros autores (5-7). Por lo que se refiere a los resultados de la sensibilidad a los antibióticos, el sistema permite consultar en cualquier momento su estado y conocer el resultado final para un antibiótico, si ya se dispone de él, con su correspondiente interpretación sin necesidad de que acabe la incubación definitiva de todos los antibióticos, que suele finalizar a las 12-14 horas, nunca más de 16 horas.

En este estudio, el sistema *Phoenix* identificó correctamente el 99,5% y el 98,5% de los bacilos gramnegativos y

los cocos grampositivos estudiados, respectivamente; los valores obtenidos con el sistema *Microscan* para los mismos microorganismos también fueron elevados: 93,3% y 97,8%. Los resultados observados con el sistema *Phoenix* fueron semejantes o ligeramente superiores a los comunicados por otros autores (8-10). En un reciente estudio multicéntrico se evaluó la concordancia entre la identificación con el sistema *Phoenix* y con otros sistemas automáticos, y su reproducibilidad interlaboratorio. Se analizaron un total de 200 microorganismos con importancia clínica (150 gramnegativos y 50 grampositivos) y se obtuvo, tras corregir las discrepancias, una concordancia en la identificación del 99,5% y una reproducibilidad del 99% (10). A la luz de estos datos, hay que destacar el hecho de que el sistema *Phoenix* no necesita el resultado de pruebas adicionales externas para la identificación final de los microorganismos, como ocurre con otros sistemas.

Los resultados de sensibilidad a los antibióticos obtenidos con el sistema *Phoenix* en la familia *Enterobacteriaceae* tuvieron una concordancia esencial y de categoría con el sistema *Microscan* del 98,5% y el 96,2%, respectivamente. Estos porcentajes son similares a los obtenidos por Menozzi y cols. (8) en su estudio (95,4% y 97,9%). Las discrepancias que se observaron con mayor frecuencia en nuestra evaluación se produjeron en la sensibilidad a la piperacilina, al objetivarse valores de CMI más elevados en el sistema *Microscan*, y en menor medida ocurrió lo mismo con cefotaxima y ceftazidima. El sistema *Phoenix* detectó correctamente siete cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido (cuatro *E. coli* y tres *K. pneumoniae*), una cepa hiperproductora de K1 (*Klebsiella oxytoca*) y 13 cepas con hiperproducción de AmpC (seis *Enterobacter cloacae*, tres *Enterobacter aerogenes*, tres *Morganella morganii* y dos *C. freundii*). Para la detección de betalactamasas de espectro extendido el sistema *Phoenix* utiliza un algoritmo que analiza los resultados de diversas cefalosporinas solas o en combinación con ácido clavulánico, y su sensibilidad ha sido evaluada en comparación con otros sistemas por Leverstein-van Hall y cols. (11).

Los valores de concordancia esencial y de categoría obtenidos para los cocos grampositivos fueron, en ambos casos, superiores al 96%. El principal problema de interpretación se planteó con los resultados de la oxacilina y los estafilococos coagulasa negativos. Por una parte, en el intervalo de diluciones de este antibiótico en los paneles *Microscan* utilizados (0,25, 1-2 mg/l) no se evaluaba la concentración de 0,5 mg/l, y por otra parte, los valores de CMI recomendados por el NCCLS para considerar una cepa como sensible ($\leq 0,25$ mg/l) probablemente no son adecuados para de-

terminadas especies como *S. lugdunensis* o *S. saprophyticus* (12). Por ello, para interpretar correctamente los resultados se determinó la presencia o ausencia del gen *mecA*. En ninguna cepa de las analizadas de estas dos especies se pudo demostrar la presencia del gen *mecA*, y se interpretaron como sensibles a la oxacilina a pesar de obtener valores de CMI de 0,5 mg/l o 1 mg/l. Ambos sistemas detectaron correctamente todas las cepas resistentes a la oxacilina (diez *S. aureus* y 30 estafilococos coagulasa negativos), así como las cuatro cepas de *Enterococcus* spp. con resistencia a los glucopéptidos (tres vanA y una vanB).

En conclusión, los resultados de esta evaluación indican que el sistema *Phoenix* es rápido y fiable para la identificación de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y las especies de los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus*, así como para determinar su sensibilidad a los antimicrobianos. Esto, junto con su facilidad de manejo y mantenimiento, lo hacen un sistema muy útil para emplear en el quehacer diario del laboratorio de microbiología clínica.

Correspondencia: Dr. Francesc Marco, Servicio de Microbiología, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona. E-mail: fmarco@clinic.ub.es. Tel.: 93 227 55 22 (ext. 3202). Fax: 93 227 93 72.

BIBLIOGRAFÍA

- Barenfanger, J., Drake, C., Kacich, G. *Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing*. J Clin Microbiol 1999; 37: 1415-1418.
- Doern, G.V., Vautour, R., Gaudet, M., Levy, B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility and bacterial identification. J Clin Microbiol 1994; 32: 1857-1862.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 12th Informational Supplement M100-S12, Villanova, PA 2002.
- Ferraro, M.J., Jorgensen, J.H. *Susceptibility testing instrumentation and computerized expert systems for data analysis and interpretation*. En: Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, DC; 1593-1600.
- Donay, J.L., Mathieu, D., Fernandes, P. y cols. *Evaluation of the automated Phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory*. J Clin Microbiol 2004; 42: 1542-1546.
- Spanu, T., Sanguinetti, M., D'Inzeo, T. y cols. *Identification of methicillin-resistant isolates of Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci responsible for bloodstream infections with the Phoenix system*. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 48: 221-227.
- Williams, W., Dunk, T., White, V. y cols. *Comparison of identification of staphylococci in BD Phoenix and Vitek*. 14th European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Praha 2004; Abstr. 22.
- Menozzi, M.G., Covan, S., Rossi, S. y cols. *Evaluation of the performance of new Phoenix automated microbiology system on Gram-*

- negative rods*. 11th European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Istanbul 2001; Abstr. P1515.
9. Eigner, U., Caganic, A., Armbrust, M., Wild, U., Fahr, A.M. *Evaluation of the new automated Phoenix microbiology system from Gram-positive cocci*. 11th European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Istanbul 2001; Abstr. P1522.
 10. Cisterna, R., Jiménez de Anta, M.T., Marco, F., Gobernado, M. y grupo de colaboradores BD Phoenix. *Evaluación del sistema BD Phoenix para identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas de importancia clínica*. VII Congreso de la Sociedad Española de Quimioterapia, Zaragoza 2003; Abstr. 56.
 11. Leverstein van Hall, M.A., Fluit, A.C., Paauw, A., Box, A.T., Brisse, S., Verhoef, J. *Evaluation of the E-test ESBL and the BD Phoenix, Vitek 1, and Vitek 2 automated instruments for detection of extended-spectrum beta-lactamases in multiresistant Escherichia coli and Klebsiella spp.* J Clin Microbiol 2002; 40: 3703-3711.
 12. Hussain, Z., Stoakes, L., Massey, V. y cols. *Correlation of oxacillin MIC with mecA gene carriage in coagulase-negative staphylococci*. J Clin Microbiol 2000; 38: 752-754.