

Nombre de la ponencia 17° Congreso Internacional del Colegio Nacional de Bacteriología CNB: Usos e interpretación clínica de la línea de medios de cultivo cromogénicos.

Ponente: Juan Fernando Londoño Arenas, bacteriólogo y laboratorista clínico, especialista en microbiología clínica, especialista en mercadeo gerencial. Asesor técnico científico y desarrollo de producto y servicio en MDM Científica S.A.S.

Introducción: Es a partir de los medios de cultivo en microbiología que se obtiene el crecimiento de la mayoría de microorganismos para su identificación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Los medios de cultivo han evolucionado, pasando de los básicos a los selectivos y diferenciales, llegando al uso de cromógenos y fluorocromos en los medios para mejor selectividad y diferenciación. La introducción de los medios cromogénicos impacta positivamente la rentabilidad, precisión y rapidez de los resultados en microbiología, ya que la mayoría de laboratorios no cuentan con las herramientas moleculares de mayor costo. Para la implementación se requiere del conocimiento de los diferentes productos y conceptos técnicos para la adecuada interpretación y uso. **Objetivo general:** Aprender los conceptos básicos para el uso e interpretación adecuados de los medios de cultivo cromogénicos.

Objetivos específicos:

- Conocer el fundamento de los medios de cultivo cromogénicos.
- Identificar las ventajas del uso de los medios de cultivo cromogénicos.
- Conocer los medios de cultivo cromogénicos más utilizados en microbiología clínica.
- Recordar los conceptos técnicos básicos de sensibilidad y especificidad diagnóstica.

Usos e interpretación clínica de la línea de medios de cultivo cromogénicos.

Entre 1967 y 1976 se dio estudio a la genética de *Escherichia coli* detectándose β galactosidasa en este microorganismo. Este descubrimiento impulsó al Dr. Alain Rambach, como pionero, a proponer en 1978 la identificación de colonias de *E. coli* con β glucuronidasa usando hidroxiquinolona, patentándose un año después. Ya en 1988 se inicia la producción del medio de cultivo cromogénico.

Los medios de cultivo cromogénicos (MCC) se utilizan para la diferenciación o selección de muchos microorganismos de importancia clínica e industrial, al utilizar sustratos cromogénicos dando como resultado producción de color. Estos colores serán característicos dependiendo del microorganismo objetivo y permitirán una diferenciación fácil y precisa. Dándose la identificación al detectar enzimas



Medios de Diagnóstico Microbiológico



específicas. Algunos sustratos son X-glucorónido, triptófano, indoxil-a-D-glucopiranosida, entre otros. Cuando se da la escisión del sustrato se liberan los cromóforos detectándose mediante la observación directa de color en la colonia o incluso su difusión al medio de cultivo.

Adicionalmente el medio de cultivo puede incluir componentes selectivos como el medio cromogénico para carbapenemasas o *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Normalmente los componentes adicionados al medio son secreto o *Know-How* del fabricante de la base deshidratada o del medio de cultivo preparado. Un medio típico no selectivo cromogénico es el usado para urocultivos, permite el aislamiento de uropatógenos, aunque también crecen otros microorganismos como *Stenotrophomonas maltophilia* no habitual en infección del tracto urinario; por esto incluso un cromogénico utilizado para orina puede ser usado para orientar el diagnóstico microbiológico en otras muestras, también como apoyo ante inquietudes en la identificación bacteriana, por ejemplo, una identificación de *Staphylococcus epidermidis* según un equipo automatizado, pero al ver la colonia se obtiene crecimiento de un coco Gram positivo con el característico color rosado o amarillo intenso (con catalasa positiva y coagulasa negativa), es así, como el medio supera la tecnología automatizada porque la identificación enzimática es más exacta (ante cualquier inquietud recordar confirmar con otras tecnologías, incluso con MALDI TOF más exacto y preciso, ya disponible en algunos laboratorios de referencia, con costos bajos por prueba).

Las ventajas generales al utilizar MCC son: menor tiempo de resultado, de proceso por muestra (pasar de 1:31 minutos con el uso de medios tradicionales a 1 y dos segundos con el uso de MCC, con identificaciones desde 24 horas de incubación), en un solo medio identificar varios microorganismos sin utilizar un medio para cada tipo de agente generando economía, la interpretación de los colores se realiza directamente sin intervención de máquinas o habilidades especiales, se elimina subcultivo y pruebas de identificación bioquímica (de 1.9 pruebas a 1 prueba), no son inhibidores, por el contrario y gracias a sus nutrientes, permiten la recuperación de los microorganismos con algún daño¹). Facilita el reconocimiento de microbiotas polimicrobianas o contaminaciones en urocultivos, evitando contrarremisiones o procesos innecesarios en el laboratorio.

En la actualidad hay diversos MCC para uso clínico como: para urocultivos, tamizaje o screening de *Streptococcus agalactiae*, para detección de *Salmonella* spp. y *Yersinia enterocolitica* en coprocultivos, *Malassezia* spp a partir de muestras de piel, vigilancia y control de bacterias multirresistente como SARM, enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEEs), de carbapenemasas, enterococos resistentes a vancomicina, especies de *Acinetobacter*. Como ayuda para la identificación de *Candida* spp.; existen otros usos en industria pero con potencial para clínica siempre y cuando se realicen estudios pertinentes como el caso de *E. coli* O157:H7, *Cronobacter sakazakii* (*Enterobacter sakazakii*), entre otros.

Cuando se implementa el MCC en el laboratorio clínico se obtendrán las ventajas ya mencionadas, sin olvidar la importancia que tienen para reconocer la presencia simultánea de 2 o más especies en una misma muestra, como el caso de los cromogénicos de *Candida* spp. y de uropatógenos; si tenemos levaduras sobre agar primario como Mycosel o Sabouraud y repicamos a un cromogénico podemos tener crecimiento de especies diferentes guiados por el color, o así sea una sola especie, pero siempre con la gran ventaja de seleccionar el antifúngico más apropiado hasta que se realice la identificación definitiva de la especie o especies². De igual manera cuando se usa un agar sangre y MacConkey para la siembra de orina podemos encontrarnos con identificaciones y perfiles de sensibilidad no acordes, reaislando el microorganismo para verificar pureza, pero con el uso de un MCC podemos ahorrar tiempo y dinero al visualizar dos o más morfologías de colonias diferentes evitando repiques innecesarios.

Es importante recordar la definición de sensibilidad (*S*) y especificidad (*E*) como parte de la validez diagnóstica para comprender mejor la finalidad de algunos MCC: tamizaje o screening. Se define la sensibilidad diagnóstica como el porcentaje de resultados verdaderos positivos en personas con la enfermedad (o con el microorganismo en estudio), o que son reconocidos como enfermos (o portadores) por la prueba; la especificidad diagnóstica es el porcentaje de resultados verdaderos negativos en personas sin la enfermedad (o sin el microorganismos en estudio) o reconocidos como no portadores. Cuando la *S* es elevada los resultados falsos negativos serán mínimos, con *E* elevada los falsos positivos serán mínimos. No existe una prueba 100% sensible y 100% específica, es decir, el aumento de una sacrifica a la otra³.

Por todo lo anterior los MCC están diseñados para ser más sensibles que específicos puesto que es fundamental detectar la portación del microorganismo en cuestión aún a expensas o sacrificando la especificidad, es decir, la idea es detectar portadores incluso cuando algunos pacientes que no lo son puedan ser clasificados falsamente (falsos positivos). Este concepto se puede comprobar en el caso del cromogénico para la detección de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina donde la *S* y *E* son del 95% y 30%, respectivamente. Así, el 95% de los resultados positivos son verdaderos positivos con falsos negativos mínimos y esto es lo que se necesita para una adecuada prevención de la propagación de esta resistencia a patógenos más virulentos como *S. aureus*, prima la detección temprana en cualquiera de estas dos especies de enterococos, diferenciándolos de manera precisa de otras. Así el resultado positivo debe ser confirmado según las normas establecidas⁴. En general los MCC utilizados para tamizaje cumplen este concepto (cromogénico para *Candida* spp *S*=89% y *E*=50%, cromogénico BLEEs *S*=95% y *E*=69%, cromogénico para carbapenemasas con *S*= 96.5% y *E*= 91.2%)^{5,6,7}.

No obstante existen medios cromogénicos con altas sensibilidades y especificidades que permiten, previa validación en el laboratorio, su uso como herramienta diagnóstica

económica comparada con otras técnicas costosas como PCR en tiempo real, como el caso del cromogénico para *S. agalactiae* donde Church y colaboradores en Canadá encontraron sensibilidades y especificidades de 98.4 y 98.4%, 99.6 y 99.6 (cromogénico y PCR tiempo real, respectivamente)⁸.

Muchos se preguntan si los MCC interfieren con la identificación. Con MALDI-TOF MS (por sus siglas en inglés Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) no hay interferencia o ningún impacto relevante en el rendimiento de esta técnica con fines diagnósticos al utilizar colonias desde el medio cromogénico⁹. Para sistemas con microdilución se ha reportado hasta 90% de identificación correcta a nivel género o especie y 100% para algunas morfologías de colonias^{10,11,12}.

En cuanto a la creencia de la interferencia con las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, cada laboratorio debe consultar con el asesor técnico del proveedor, tanto de pruebas o tecnologías de identificación y antibiograma, como el proveedor de medios de cultivo preparados o deshidratados. Estudios que indican que las colonias tomadas a partir de MCC no interfieren con el antibiograma, con concordancias hasta del 97,4%^{13,14}. Adicionalmente recordar que la identificación y antibiograma se deben controlar interna y externamente a partir de los medios utilizados, en este caso los MCC. Por experiencia y estudios los cromogénicos no interfieren, argumentando adicionalmente el control con cepas ATCC.

Recordar que los MCC ayudan a detectar más fácilmente microorganismos en comparación de los tradicionales, como realizar un urocultivo sobre un MCC de orina donde puedes observar incluso crecimiento de recuentos bajos de *S. agalactiae*; al utilizar agar sangre obtienes casos donde hay recuentos inferiores a 10.000 UFC/ml de un coco Gram positivo que se informaría como microbiota comensal o incluso negativo; con el uso del MCC de orina *S. agalactiae* se vería azul claro conduciendo a su confirmación de identificación o no (según protocolos) y de tal manera mejorar el resultado y diagnóstico clínico, máxime cuando es paciente gestante.

Los MCC son una herramienta indispensable en microbiología clínica por tantas ventajas, con disminución de costos y tiempos, además de orientar un mejor diagnóstico, incluso anticipado ante la confirmación de una sospecha clínica.

REFERENCIAS

1. Yarbrough ML, et al. Culture of Urine Specimens by Use of chromID CPS Elite Medium Can Expedite Escherichia coli Identification and Reduce Hands-On Time in the Clinical Laboratory. J Clin Microbiol. 2016 Nov;54(11):2767-2773
2. Alfonso C. Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar Rev Iberoam Micol. 2010;27(2):90-93.
3. Sierra F. La sensibilidad y especificidad: entendiendo su origen y utilidad real...Rev Col Gastroenterol vol.18 no.3 Bogotá Sep./Aug. 2003.
4. Soares RO, et al. Evaluation of a selective chromogenic médium for detecting vancomycin-resistant enterococci. Braz J Microbiol. (2017).
5. Oliveira H, et al. Phenotypic and genotypic detection of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* strains isolated from oral mucosa of AIDS pediatric patients. Rev Int Med Trop São Paulo. 2017; 59: e14.

MDM CIENTÍFICA S.A.S Calle 7 Sur No 51 A – 90 of 102. Medellín, Colombia. Teléfonos (4) 444 5943
Cel: 315 545 5654 e-mail asesorcomercial@mdmcientifica.com, asesorindustria@mdmcientifica.com,
direccioncomercial@mdmcientifica.com. asesortecnicocientifico@mdmcientifica.com

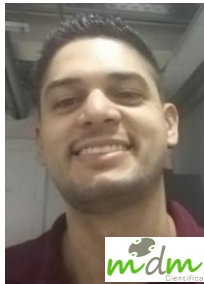
www.mdmcientifica.com

Medios de Diagnóstico Microbiológico

6. Romero-Jung PA. Romero-Jung Utilidad del medio chromID™ de betalactamasas de espectro extendido para detectar resistencia a cefalosporinas en enterobacterias inoculadas en frascos de hemocultivo. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27(6):367–369.
7. Papadimitriou-Olivergeris M, et al. Performance of chromID® CARBA medium for carbapenemases-producing Enterobacteriaceae detection during rectal screening. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Jan;33(1):35-40.
8. Church DL, et al. Evaluation of StrepBSelect Chromogenic Medium and the Fast-Track Diagnostics Group B Streptococcus (GBS) Real-Time PCR Assay Compared to Routine Culture for Detection of GBS during Antepartum Screening. *J Clin Microbiol*. 2017. Jul;55(7):2137-2142.
9. Lüthje P, et al. Identification of microorganisms grown on chromogenic media by MALDI-TOF MS. *J Microbiol Methods*. 2017 May; 136:17-20.
10. Javier Colomina J, et al. Fiabilidad del medio de cultivo cromogénico MPO en la identificación presuntiva de microorganismos uropatógenos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22:251-2.
11. Cassagne C. Routine identification and mixed species detection in 6,192 clinical yeast isolates. *Medical Mycology*, 2016, 54, 256–265.
12. Muñoz-Dávila MJ. Comparative evaluation of Vitek 2 identification and susceptibility testing of urinary tract pathogens directly and isolated from chromogenic media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013 Jun;32(6):773-80.
13. Yarbrough ML, et al. Culture of Urine Specimens by Use of chromID CPS Elite Medium Can Expedite Escherichia coli Identification and Reduce Hands-On Time in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol*. 2016 Nov;54(11):2767-2773.
14. Yagmur G. Is rapid antibacterial susceptibility testing medium reliable for routine laboratory practices?. *Pak J Med Sci*. 2015 Mar-Apr; 31(2): 351–354.

Cualquier inquietud u observación no dude en preguntarnos. Cordial saludo y siempre a su servicio,

“MDM Científica S.A.S, medios de diagnóstico microbiológico hechos a tu medida”



Juan Fernando Londoño Arenas

Bc. Esp. microbiología clínica y mercadeo gerencial

Asesor técnico científico - desarrollo de producto

MDM científica S.A.S

MDM CIENTÍFICA S.A.S Calle 7 Sur No 51 A – 90 of 102. Medellín, Colombia. Teléfonos (4) 444 5943
Cel: 315 545 5654 e-mail asesorcomercial@mdmcientifica.com, asesorindustria@mdmcientifica.com,
direccioncomercial@mdmcientifica.com. asesortecnicocientifico@mdmcientifica.com

www.mdmcientifica.com