

## Identificación de *Neisseria gonorrhoeae*. Utilidad de la tarjeta 2 NH del sistema Vitek 2C

ROLANDO N. SOLOAGA<sup>1\*</sup>, NATALIA CARRION<sup>1</sup>, IRENE PAGANO<sup>2</sup>, CLAUDIA OVIEDO<sup>2</sup>, ADRIANA DIEZ<sup>1</sup>, JUAN C. PIDONE<sup>1</sup>, MARISA ALMUZARA<sup>3</sup>, CARLOS VAY<sup>3</sup>, PATRICIA GALARZA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología, Hospital Naval "Pedro Mallo", Patricias Argentinas 351 (1405) Ciudad Autónoma de Buenos Aires;

<sup>2</sup>Servicio de Infecciones de Transmisión Sexual, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Av. Vélez Sarsfield 563 (1281) Ciudad Autónoma de Buenos Aires; <sup>3</sup> Laboratorio de Bacteriología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad de Buenos Aires, Av. Córdoba 2351 (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

\*Correspondencia. E-mail: rnsoloaga@yahoo.com

### RESUMEN

Por medio de la tarjeta NH del sistema Vitek 2C (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia) se ensayó un total de 115 aislamientos clínicos únicos de *Neisseria gonorrhoeae* y 54 cepas de otros géneros y especies incluidas en la base de datos de esta tarjeta. Los aislamientos de gonococos fueron identificados previamente por medio de pruebas bioquímicas convencionales y por aglutinación con partículas de látex y anticuerpos monoclonales usando el Phadebact Monoclonal GC Test (Bactus AB, Suecia). La tarjeta NH identificó correctamente a 111 (96,5 %) de las cepas; una (0,86 %) cepa fue identificada con bajo poder de discriminación, una (0,86 %) fue identificada erróneamente como *N. meningitidis* y 2 (1,7 %) no fueron identificadas. La especificidad en la identificación de *N. gonorrhoeae* fue del 100 %. Los resultados fueron obtenidos dentro de las 6 horas. La tarjeta NH puede ser considerada como una herramienta útil y confiable para la identificación rutinaria de *N. gonorrhoeae*.

**Palabras clave:** *Neisseria gonorrhoeae*, Vitek 2C, identificación

### ABSTRACT

***Neisseria gonorrhoeae* identification. Usefulness of the Vitek 2C NH card.** A total of 115 unique clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* and 54 strains of other genera and species included in the database of the NH card were tested by the Vitek 2C System (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia). The gonococcal isolates had been previously identified by conventional biochemical tests and by the latex agglutination test with monoclonal antibodies using the Phadebact Monoclonal GC Test (Bactus AB, Sweden). The NH card correctly identified 111 (96.5 %) strains of 115 isolates; one strain was identified with low discriminatory power (0.86 %), one (0.86 %) was misidentified (as *Neisseria meningitidis*) whereas the other two (1.7 %) remained unidentified. The NH card for *N. gonorrhoeae* identification provided 100 % specificity. The results were available within 6 hours. The NH card could be considered a reliable and useful tool for routine use in *Neisseria gonorrhoeae* identification.

**Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*, Vitek 2C, identification

Los dos principales microorganismos patógenos del género *Neisseria* son *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis*. Otras especies como *Neisseria lactamica*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria subflava* y *Neisseria elongata* incluyen microorganismos generalmente considerados comensales, pero estos han sido implicados en infecciones oportunistas y en pacientes inmunocomprometidos (9).

Los síntomas de las infecciones relacionadas

con *N. gonorrhoeae* difieren dependiendo del sitio de infección. Este microorganismo puede causar uretritis, cervicitis, prostatitis, orquitis, enfermedad inflamatoria pelviana, bartolinitis, perihepatitis, faringitis, conjuntivitis, artritis o enfermedad gonocócica diseminada; otras localizaciones mucho más infrecuentes se asocian con endocarditis y meningitis (9).

La principal forma de transmisión es el contacto sexual, y en los niños, el aislamiento de este

microorganismo es un indicador de abuso sexual; por estas razones, una identificación incorrecta o demorada podría tener graves implicancias legales y sociales (3).

El objetivo de nuestro trabajo fue el de establecer la utilidad de la tarjeta NH del sistema Vitek 2C (bioMérieux, Marcy L'Etoile, Francia) en la identificación de *N. gonorrhoeae*. Parte de este trabajo fue presentado en el 22.º ECCMID de Londres 2012, Inglaterra.

Se estudió un total de 115 aislamientos clínicos únicos provenientes del Servicio de Infecciones de Transmisión Sexual, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", obtenidos del Programa Argentino de Vigilancia de la Resistencia en Gonococos.

Las cepas fueron previamente identificadas sobre la base de la morfología de la colonia; coloración de Gram; producción de oxidasa y superóxido; utilización de glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa; y por aglutinación con partículas de látex y anticuerpos monoclonales usando Phadebact Monoclonal GC Test (Bactus AB, Suecia).

Por otra parte, se analizaron 54 cepas de otros géneros y especies incluidas en la base de datos de la tarjeta NH y que, eventualmente, podrían ser incorrectamente identificadas como gonococos por el sistema; estas incluyeron *Haemophilus influenzae* (n = 18), *Haemophilus parainfluenzae* (n = 2), *Moraxella catarrhalis* (n = 6), *N. meningitidis* (n = 13), *N. cinerea* (n = 3), *N. sicca* (n = 1), *N. lactamica* (n = 2), *N. flavescens* (n = 2), *N. mucosa* (n = 3), *Eikenella corrodens* (n = 3) y *Oligella urethralis* (n = 1).

Las cepas se subcultivaron en agar chocolate con 5 - 10 % de CO<sub>2</sub> y luego de 24 h de incubación, por medio del Densichek del sistema Vitek 2C, se preparó una suspensión bacteriana en solución fisiológica al 0,45 % correspondiente al patrón de turbidez N.º 3 de Mc Farland. Las tarjetas NH fueron inoculadas y cargadas inmediatamente en el sistema automatizado de identificación y antibiograma Vitek 2C (bioMérieux), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Para el análisis de los resultados se consideraron cuatro categorías.

Identificación correcta: identificación correcta con más de 90 % de probabilidades a nivel de especie.

Bajo poder de discriminación: identificación a nivel de género o especie con bajo poder de discriminación (< 90 %) entre 2 o más microorganismos, incluyendo la especie correcta.

Falta de identificación: cepas sin resultado de identificación.

Identificación errónea: la especie o el género identificado era diferente a la correspondiente obtenida por el método de referencia.

Sobre un total de 115 cepas, 111 (96,5 %)

fueron correctamente identificadas; una cepa fue identificada con bajo poder de discriminación (0,86 %), una (0,86 %) fue incorrectamente identificada como *N. meningitidis* y otras 2 (1,7 %) no fueron identificadas. Todos los resultados fueron obtenidos dentro de las 6 h. Con respecto a otros géneros y especies, ninguna de las 54 cepas fue identificada incorrectamente como *N. gonorrhoeae*, lo que da como resultado un 100 % de especificidad en la identificación de dicho microorganismo. De hecho, todas las cepas de *N. meningitidis*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *E. corrodens*, *O. urethralis*, *N. cinerea* y *N. sicca* fueron correctamente identificadas a nivel de género y especie. Las dos cepas de *N. flavescens* no pudieron ser identificadas por medio de la tarjeta NH, así como tampoco una de las correspondientes a *N. mucosa*; otras dos cepas de esta última especie fueron incorrectamente identificadas (una como *N. elongata* y la otra como *N. sicca*) así como una cepa de *N. subflava* (identificación errónea: *N. elongata*).

La identificación con la tarjeta NH del sistema Vitek 2C está basada en una tecnología colorimétrica que incluye 30 pruebas bioquímicas (11 pruebas de glucosidasa y peptidasa, 10 pruebas de acidificación, 5 de alcalinización y 4 misceláneas). La base de datos incluye 28 taxones, entre los que se encuentran comprendidas especies de *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Gardnerella*, *Kingella*, *Moraxella*, *Oligella* y *Sutonella*.

Alexander *et al.* (1) evaluaron el desempeño de cuatro kits comerciales [API NH, RapID NH, Gonocheck II y *Neisseria* Preformed Enzyme Test (PET)], tres kits inmunológicos (Phadebact Monoclonal GC test, GonoGen II y MicroTrak) y un método casero basado en la utilización de azúcares en el medio base de agar con cistina y tripticasa (CTA), y encontraron los siguientes valores: API NH 66 %, RapID NH 64 %, GonoCheck II 66 %, *Neisseria* PET 66 %, Phadebact Monoclonal GC OMNI Test 99 %, GonoGen II 100 %, MicroTrak 100 %, y 96 % para el método de utilización de carbohidratos.

Janda *et al.* (4) utilizaron un sistema automatizado como MicroScan (Dade MicroScan Inc, Sacramento, California, EE.UU.) y el panel HNID (*Haemophilus-Neisseria*-Identification), y lograron identificar correctamente a 95,3 % de las cepas (n = 83). Este autor (5), en otro trabajo con el sistema Vitek 1 y la tarjeta NHI, identificó al 99,1 % de 110 cepas de *N. gonorrhoeae*.

Otros autores utilizaron el sistema Vitek 2 (bioMérieux) y la tarjeta NH para la identificación de este microorganismo. Valenza *et al.* (10) encontraron resultados similares a los nuestros ensayando un número mucho menor de cepas; sobre 12

aislamientos de *N. gonorrhoeae*, la tarjeta NH de Vitek 2 identificó correctamente a 11 (91,6 %) y una cepa fue incorrectamente identificada como *N. cinerea*.

Rennie *et al.* (7) ensayaron 51 cepas, 45 de ellas fueron correctamente identificadas y 6 tuvieron un bajo nivel de discriminación. También incluyeron 371 cepas de diferentes géneros y especies distintas a gonococo y que están en la base de datos de la tarjeta NH; 57 cepas correspondían a especies de *Neisseria* diferentes al mencionado microorganismo, y ninguna fue identificada incorrectamente como *N. gonorrhoeae*, al igual que lo demostrado por nuestros resultados.

Este último dato es importante destacar, dado que una identificación incorrecta de *N. gonorrhoeae* pueden tener implicancias sociales y legales muy graves.

Mills *et al.* (6) encontraron que sobre 45 cepas de gonococos, tres fueron incorrectamente identificados como *N. cinerea*. Estos errores de identificación se debieron a cepas atípicas que no oxidan la glucosa. En nuestro trabajo no encontramos este problema, pero sí una cepa que fue incorrectamente identificada como *N. meningitidis*.

Sonksen *et al.* (8) encontraron problemas en la identificación de cepas atípicas de *N. gonorrhoeae* proline-arilamidasa negativa que fueron erróneamente identificadas como *M. catarrhalis*; estas cepas son más frecuentes en Escandinavia y no hemos documentado este problema en las cepas analizadas en este trabajo.

En general, diversas publicaciones demostraron, usando el sistema Vitek 2 (bioMérieux), un rango de identificación correcta del 96 al 98 %, identificación errónea entre 1 y 2,5 % y falta de identificación en 0 a 1,2 % (2, 6 - 8, 10, 11). Aunque nuestros datos son coincidentes con lo citado previamente, este trabajo incluye un número muy superior de cepas en comparación con informes anteriores de otros autores, y refleja a los clones predominantes en la Argentina.

**Agradecimiento:** se agradece a la empresa bioMérieux Argentina por el aprovisionamiento gratuito de las tarjetas NH para la realización de este trabajo.

Rolando N. Soloaga se desempeña como asesor científico de bioMérieux Argentina.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alexander S, Ison C. Evaluation of commercial kits for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. J Med Microbiol 2005; 54: 827-31.
- Funke G, Desmonceaux M, Perrot N, Roger-Dalbert C, Bourgeois C, Pincus D, Chatellier S. Performance of the new Vitek 2 NH card in a routine clinical laboratory. 106<sup>th</sup> General Meeting of the American Society for Microbiology 2006, Resumen C-010, p. 101, Orlando, Florida, EE.UU.
- Hammerschlag MR, Guillen CD. Medical and legal implications of testing for sexually transmitted infections in children. Clin Microbiol Rev 2010; 23: 493-506.
- Janda WM, Bradna JJ, Rather P. Identification of *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., and other fastidious gram-negative bacteria with the MicroScan *Haemophilus-Neisseria* identification panel. J Clin Microbiol 1989; 27: 869-73.
- Janda WM, Malloy PJ, Schreckenberger PC. Clinical evaluation of the Vitek *Neisseria-Haemophilus* identification card. J Clin Microbiol 1987; 25: 37-41.
- Mills J, Anheuser M, Beres C, Moss N, Rennie R, Brosnikoff C, Pincus D. Rapid automated identification of *Neisseria gonorrhoeae* fresh isolates with the new Vitek 2 NH card. 106<sup>th</sup> General Meeting of the American Society for Microbiology 2006, Resumen C-102, p. 103, Orlando, Florida, EE.UU.
- Rennie RP, Brosnikoff C, Shokoples S, Reller LB, Mirrett S, Janda W, Ristow K, Krilcich A. Multicenter evaluation of the new Vitek 2 *Neisseria-Haemophilus* identification card. J Clin Microbiol 2008; 46: 2681-5.
- Sonksen UW, Christensen JJ, Nielsen L, Hesselbjerg A, Schrader Hansen D, Bruun B. Fastidious gram-negatives: identification by the Vitek 2 *Neisseria-Haemophilus* card and by partial 16S rRNA gen sequencing analysis. Open Microbiol J 2010; 4: 123-31.
- Sparling PF, Handsfield HH. *Neisseria gonorrhoeae*. En: Mandell GL, Dolin R, Bennett JE, editores. Enfermedades Infecciosas, Principios y Práctica, 5<sup>ta</sup> edición. Buenos Aires, Editorial Panamericana, 2002, p. 2719-40.
- Valenza G, Ruoff C, Vogel U, Frosch M, Abele-Horn M. Microbiological evaluation of the new Vitek 2 *Neisseria-Haemophilus* (NH) identification card. J Clin Microbiol 2007; 45: 3493-7.
- Zbinden A, Bottger EC, Bosshardt PP, Zbinden R. Evaluation of the colorimetric Vitek 2 card for identification of gram-negative non-fermentative rods: comparison to 16s rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 2007; 45: 2270-3.