

Rafael Cantón
Elena Loza
José Romero

Aplicabilidad de las nuevas técnicas de diagnóstico microbiológico; innovación tecnológica

Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS)

RESUMEN

En los últimos años se han introducido nuevas técnicas en los laboratorios de microbiología, incluyendo la espectrometría de masas y los sistemas de secuenciación masiva de próxima generación. Estas técnicas, así como la automatización, la microfluídica, la nanotecnología y la informática, han impulsado la innovación en la prevención y el manejo de las enfermedades infecciosas. Esta aproximación es relevante en el proceso de revitalización y consolidación de los Servicios de Microbiología Clínica.

Applicability of new diagnostic techniques in microbiology; technological innovation

ABSTRACT

Different new techniques have been introduced in microbiology laboratories during the last years, including mass spectrometry and next generation sequencing. These techniques, in addition to automation, microfluidics, nanotechnology and informatics, have impelled innovation in the prevention and management of patients with infectious diseases. These approaches are relevant for revitalization and consolidation Clinical Microbiology laboratories.

LA INNOVACIÓN COMO MOTOR DEL CAMBIO EN LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

La innovación en salud supone la introducción de productos, procesos y técnicas que determinan un cambio en el manejo y conocimiento del individuo, bien con fines preventivos o de tratamiento. En los últimos años se ha producido una auténtica revolución en la aplicación de nuevas técnicas en los laboratorios de microbiología que debe ser aprovechada como motor de la innovación¹⁻³. Entre ellas destacan la espectrometría de masas en el terreno de la proteómica y la cuantificación de material genético y su secuenciación masiva con sistemas de nueva generación en el campo de la genómica. Estas últimas suponen además el afianzamiento de la microbiología clínica y las enfermedades infecciosas en la corriente denominada medicina personalizada⁴.

Las nuevas técnicas están suponiendo un motor de cambio tanto en los procesos de actuación en el propio laboratorio como en su proyección hacia la clínica. A este proceso también están ayudando los avances en la robótica que han permitido la automatización, la microfluídica y la nanotecnología, así como disponer de sistemas informáticos capaces de analizar y gestionar la gran cantidad de información que se genera.

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA INTRODUCCIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

La introducción de las nuevas tecnologías, en algunos casos aún por demostrar plenamente su eficiencia, trae consigo una mejora de los valores diagnósticos (sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos)²⁻³. Estas tecnologías suponen una menor duración de los procesos y por tanto inciden de forma positiva en la mejora del tiempo de respuesta, acercando el laboratorio de microbiología al punto de decisión clínica en el manejo del paciente. En muchas ocasiones facilitan una consolidación y revitalización del propio laboratorio de microbiología ya que suelen llevar pareja una automatización que permite asumir una mayor carga de trabajo y una mejor gestión de los procesos^{5,6}. También están siendo útiles para suplir la reducción de los recursos humanos

Correspondencia:
Rafael Cantón
Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación, Madrid.
E-mail: rafael.canton@salud.madrid.org

a los que se están enfrentando actualmente los laboratorios. Por el contrario, pueden suponer un aumento de los costos para el propio laboratorio, al menos a corto plazo por la inversión inicial, y la desaparición de técnicas tradicionales y competencias específicas del laboratorio de microbiología. Un ejemplo claro es el cultivo de virus y de otros patógenos intracelulares, relegados actualmente a laboratorios muy especializados, generalmente de referencia. Hoy en día, en los laboratorios de rutina, las técnicas de cultivo de virus han sido desplazadas por las moleculares. No obstante, estas desventajas han quedado minimizadas en diversos análisis de costo-efectividad en términos de eficiencia y salud, ya que la rapidez con la que ofrecen los resultados permite actuaciones precoces con la implantación de medidas terapéuticas que mejoran el pronóstico del paciente.

DIAGNOSTICO RÁPIDO Y ATENCIÓN CONTINUADA

Un área en la que la innovación en microbiología ha tenido un gran auge ha sido la del diagnóstico rápido, muy superpuesto a la atención continuada en microbiología. En este área se diferencian las técnicas que pueden realizarse a pie de paciente y las técnicas rápidas propiamente dichas⁷. Las primeras, también denominadas *point-of-care*, son muy sencillas de realizar, no requieren personal cualificado o especialmente entrenado, ofrecen en general resultados en menos de una hora y sirven para tomar una primera decisión clínica, bien en el manejo del paciente o en la orientación en el diagnóstico que incluye la solicitud de nuevos estudios de laboratorio. Las más populares son las técnicas de inmunocromatografía (o técnicas de *lateral-flow*). Tienen como inconveniente que no siempre la sensibilidad y especificidad cumplen las expectativas esperadas. También su alejamiento del propio laboratorio, que a veces no se realizan bajo estándares de calidad (certificación o acreditación) y que la información no se recoge en los sistemas informáticos de los laboratorios. Por este motivo, en algunos centros se han creado los denominados "laboratorios *point-of-care*" en los que además de este tipo de pruebas se realizan también las técnicas rápidas⁵. Con ello se consigue una mejor gestión tanto de las pruebas en sí como de los resultados que ofrecen.

Las técnicas rápidas se realizan en los propios laboratorios, el personal requiere una cualificación y entrenamiento específicos y pueden estar automatizadas. Aunque su tiempo de desarrollo debe ser inferior a 7-8 horas (una jornada laboral) las que más aceptación tienen son las que ofrecen resultados en menos de tres horas. Están sujetas a sistemas de calidad y los resultados se albergan en los sistemas informáticos de los laboratorios. En las técnicas rápidas es esencial la rapidez en la gestión tanto preanalítica como postanalítica ya que muchos laboratorios, a pesar de tener un rigor exquisito en el desarrollo de las técnicas fracasan por una gestión deficiente de la llegada de las muestras al laboratorio. También es importante la gestión postanalítica ya que los resultados deben llegar en "tiempo real" a los responsables del paciente para que impacten de manera adecuada en la toma de decisiones.

Es el área de las técnicas rápidas donde mayor impulso innovador se ha realizado. Se han desarrollado sistemas de PCR en tiempo real, *microarrays*, amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (LAMP) y sistemas basados en el reconocimiento inmunológico de antígenos que ofrecen resultados con elevada sensibilidad y valores predictivos negativos³. Por el momento las técnicas de espectrometría de masas (MALDI-TOF), muy introducidas en los laboratorios de microbiología en la identificación de microorganismos, no han irrumpido en el diagnóstico rápido. No obstante, recientemente se ha introducido en el mercado un sistema que combina la amplificación de material genético y la espectrometría por *electrospray* que permite una detección directa de los patógenos a partir de la muestra^{3,8}.

Por otra parte, la introducción de las técnicas rápidas ha abierto un debate en cómo deben procesarse en los laboratorios, bien de forma individualizada, una a una, o en sistemas en los que se puedan realizar de forma simultánea varias de ellas. Cada una de estas opciones tiene sus ventajas e inconvenientes. Los detractores del procesamiento simultáneo de varias muestras alegan la demora que conlleva acumular varias muestras hasta su realización, mientras que otros defienden la política del procesamiento inmediato a su llegada al laboratorio.

PLATAFORMAS DIRIGIDAS A UN SOLO PATÓGENO VERSUS PLATAFORMAS DIRIGIDAS A VARIOS PATÓGENOS ASOCIADOS CON UNA SITUACIÓN CLÍNICA

La irrupción de las nuevas técnicas rápidas, generalmente basadas en la detección de ácidos nucleicos, y su versatilidad ha generado también un amplio debate de cómo deben ser las plataformas y las pruebas que se utilizan. Por una parte están las dirigidas a un solo patógeno (*single-analyte testing*) y por otro las dirigidas a varios patógenos o patología específica (*multiplex-target testing*)². Como ejemplo estaría el de las infecciones gastrointestinales⁹. Existen sistemas que ofrecen exclusivamente la detección de un solo microorganismo como *Clostridium difficile* y otros que llevan paneles diferenciados de patógenos bacterianos, parásitos o virus. En el caso de las bacterias, ha dado lugar a que en algunos laboratorios no se siembren las heces sistemáticamente a su entrada en el laboratorio sino en función del resultado de las pruebas rápidas, generalmente moleculares. Es decir, sólo se sembrarían las heces para la búsqueda de bacterias enteropatógenas cuando previamente se ha detectado entre otros, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Aeromonas* spp. o *Escherichia coli* enterotoxigénico. Igualmente sucede con las pruebas para patógenos de infecciones respiratorias o de transmisión sexual.

SECUENCIACIÓN CON SISTEMAS DE PRÓXIMA GENERACIÓN Y MEDICINA PERSONALIZADA

La secuenciación con sistemas de próxima generación ha abierto un nuevo campo en la innovación en la Microbiología Clínica. Se están aplicando a la secuenciación de genomas

(*whole genome sequencing*) completos tanto de bacterias como de virus o patógenos fúngicos y al análisis del microbioma (metagenómica)⁹. La secuenciación de genomas completos se está empleando en la detección de patógenos específicos, para la epidemiología de brotes e incluso se postula como un área que podría sustituir a los estudios fenotípicos de sensibilidad actuales. El análisis del microbioma, tanto del individuo sano como enfermo, ofrece diferentes posibilidades entre las que se encuentran la definición de patógenos no reconocidos con anterioridad y el conocimiento de la interrelación entre diferentes comunidades bacterianas (e incluso víricas) y su desequilibrio en relación con la enfermedad. Territorios que se pensaban anteriormente estériles, como el tracto respiratorio inferior o la placenta, tienen su propia microbiota y su alteración podría influir en la salud de individuo. Esta influencia podría ser incluso derivada en el tiempo por su interrelación con el sistema inmunológico.

CONCLUSIONES

Los avances tecnológicos suponen un reto en el desarrollo de la Microbiología Clínica. La tecnología es una herramienta para la innovación y debe ser aplicada no sólo en la mejora de la eficiencia diagnóstica sino también en los procesos del propio laboratorio y los que trascienden al propio individuo, sano o enfermo. Dada la rápida renovación que suelen tener las técnicas de laboratorio y la tecnología que llevan asociada, el cambio en los procesos es aún un reto mayor ya que éstos perduran en el tiempo y son los que imprimen un mayor sentido innovador. La Microbiología Clínica no puede ser ajena a ellos siendo una oportunidad que debe ser aprovechada para revitalizar y consolidar su posición.

BIBLIOGRAFÍA

1. Roth S. New for Whom? Initial Images from the Social Dimension of Innovation. *Int J Innovation Sust Develop* 2009 4:231-52.
2. Caliendo AM, Gilbert DN, Ginocchio CC, Hanson KE, May L, Quinn TC, et al. Infectious Diseases Society of America (IDSA). Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2013 ; 57 (Suppl 3):S139-70.
3. Buchan BW, Ledebner NA. Emerging technologies for the clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27:783-822.
4. Jameson JL, Longo DL. Precision Medicine - Personalized, Problematic, and Promising. *N Engl J Med* 2015; 72: 2229-34.
5. Fournier PE, Drancourt M, Colson P, Rolain JM, La Scola B, Raoult D. Modern clinical microbiology: new challenges and solutions. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11:574-85.
6. Bourbeau PP, Ledebner NA. Automation in clinical microbiology. *J Clin Microbiol* 2013; 51:1658-65.
7. Teles F, Seixas J. The future of novel diagnostics in medical mycology. *J Med Microbiol* 2015; 64:315-322.
8. Huttner A, Emonet S, Harbarth S, Renzi G, Kaiser L, Schrenzel J. Polymerase-chain reaction/electrospray ionization-mass spectrometry for the detection of bacteria and fungi in bronchoalveolar lavage fluids: a prospective observational study. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20:01059-66.
9. Fournier PE, Dubourg G, Raoult D. Clinical detection and characterization of bacterial pathogens in the genomics era. *Genome Med* 2014; 6:114.
10. Wain J, Mavrogiorgou E. Next-generation sequencing in clinical microbiology. *Expert Rev Mol Diagn* 2013; 13:225-7.