

Carta al Director

Marina Peñuelas
Francisco Javier Candel
Avelina Suárez Moya

Controles interlaboratorio: algo más que un examen de conocimientos

Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense. Madrid. Spain.

Sr. Editor: la concentración mínima inhibitoria o CMI_{90} se define como la concentración mínima de antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento del 90% de una población bacteriana en un medio de cultivo después de su incubación. Se establece en el laboratorio aplicando concentraciones conocidas crecientes de un determinado antimicrobiano a una dilución también conocida de población bacteriana ajustada a un coeficiente de turbidez, que denominamos índice de McFarland, y que se correlaciona con la cantidad de bacteria en ese medio de cultivo. Este coeficiente de turbidez se mide con aparatos denominados nefelómetros en un proceso ágil y rutinario en todos los laboratorios de Microbiología. Para poder extrapolar y reproducir de manera global los resultados sobre sensibilidad o resistencia a los antibióticos de los microorganismos, así como las circunstancias en que esto sucede, se necesitan estándares internacionales tanto de la especie bacteriana (cepas ATCC) como en la concentración en el medio (índice de McFarland). A partir de estos estándares, se marcan internacionalmente los puntos de corte de sensibilidad o resistencia, que se correlacionarán con el éxito o fracaso al emplear determinado antimicrobiano e incluso la dosis a la que éste se podría emplear. Estos puntos de corte se actualizan continuamente en función de parámetros farmacológicos, epidemiológicos y de respuesta clínica en comités internacionales, como el Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) o el European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), que todos los laboratorios siguen, garantizando la calidad y reproducibilidad de los resultados microbiológicos y clínicos.

La determinación de la CMI a antimicrobianos por medio de la difusión en gradiente, E-test, es una técnica

extensamente empleada en los laboratorios de Microbiología Clínica debido a su buena correlación con la microdilución en caldo¹ (técnica de referencia recomendada por los comités del CLSI o el EUCAST), siendo además, más fácil y rápida de realizar que ésta. En nuestro laboratorio empleamos el E-test tanto para verificar una CMI obtenida por un sistema automatizado como para testar antibióticos que no aparecen en los paneles de dichos sistemas. Al tratarse de una técnica manual es susceptible de incurrir en errores aleatorios, difíciles de evitar. Sin embargo, resulta de capital interés intentar detectar y evitar el error sistemático en su realización, pues podría repercutir en el manejo clínico y el pronóstico del paciente frente a microorganismos multirresistentes (aquellos con las CMI más elevadas a varios fármacos), al limitar alternativas terapéuticas. Esto, por ejemplo, resulta decisivo en el contexto de las infecciones causadas por enterobacterias portadoras de carbapenemasas (EPC), en las que es importante que la realización de la técnica de E-test sea fiable y reproducible.

La implantación de los programas de calidad en los laboratorios de bacteriología cuenta con trabas como la heterogeneidad y variabilidad de las muestras empleadas, el habitual empleo de técnicas manuales difíciles de controlar y el hecho de trabajar con organismos vivos, por ello susceptibles a cambios durante su manipulación. Sin embargo constituyen una herramienta necesaria cuyo objetivo es el de estandarizar y homogeneizar sistemas de trabajo para hacerlos reproducibles y seguros.

En octubre de 2015 participamos en un "Estudio multicéntrico para determinar la capacidad de los laboratorios españoles de identificar fenotipos de resistencia a los beta-lactámicos en enterobacterias" organizado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Participando en el mismo, tuvimos la oportunidad de descubrir un error sistemático en la realización de E-test que sobrevaloraba la CMI a los carbapenemes. Los resultados hacían difícil o imposible el empleo de esta familia de antimicrobianos frente a las EPC.

Correspondencia:
Marina Peñuelas
Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense
Avda Dr Martín Lagos s/n
28040. Madrid. Spain.
Teléfono: +34 91 330 3486
E-mail: marinapenuelas03@gmail.com

Tabla 1 CMI a meropenem determinada por E-test frente a cepas de EPC remitidas del programa SEIMC y número de diluciones de diferencia respecto a la referencia.

CEPA	CMI Referencia (SEIMC)	Resultados obtenidos en nuestro laboratorio	Nefelómetro control		Nefelómetro HC	
			CMI	Nº diluciones	CMI	Nº diluciones
<i>E. coli</i>	0,5	>32	8	4 ^a	0,75	1
<i>E. cloacae</i>	4	>32	1,5	-1	0,38	-3 ^a
<i>K. pneumoniae</i>	8	>32	3	-1	3	-1
<i>K. pneumoniae</i>	>32	>32	>32	0	>32	0
<i>K. pneumoniae</i>	0,125	0,25	0,047	-1	0,094	0
<i>K. oxytoca</i>	1	1	0,5	-1	1	0
<i>K. pneumoniae</i>	2	>32	1,5	0	1,5	0
<i>R. ornithinolytica</i>	0,5	4	0,75	1	0,38	0
<i>E. coli</i>	0,25	16	0,75	2	0,25	0
<i>E. aerogenes</i>	0,125	3	0,125	0	0,125	0

Datos del estudio intercomparativo y de las comprobaciones realizadas con distintos nefelómetros siguiendo las normas de realización de E-test publicadas. ^aLos dos casos en los que se obtuvieron valores de CMI con una diferencia superior a dos diluciones respecto a la referencia correspondían a pruebas realizadas sobre cepas distintas con nefelómetros diferentes siendo en un caso un error por exceso y en otro por defecto, por lo que se consideraron errores aleatorios.

En esta situación se llevó a cabo un análisis de las posibles causas que comenzó por verificar la realización de todas las calibraciones de nefelómetros programadas desde antes de la realización de la prueba. A continuación se revisó la manera de realizar los E-test por parte del personal técnico descubriendo una falta de homogeneidad. En este punto y para eliminar variables interindividuales, una única persona repitió la técnica de E-test con 10 de las cepas de la prueba, empleando otro nefelómetro (denominado nefelómetro control) y siguiendo las indicaciones publicadas para la realización del McFarland según los protocolos de la SEIMC². Se consideraron aceptables los resultados dentro de un rango de dos diluciones por ambos extremos respecto a las enviadas por el grupo organizador del estudio. De esta manera se obtuvieron 9/10 resultados aceptables. A continuación se repitió la determinación con el mismo nefelómetro empleado en la realización de la prueba (denominado nefelómetro HC) y añadiendo a las cepas probadas una cepa ATCC de referencia (*E. coli* 25922), obteniendo también 9/10 resultados aceptables más el correspondiente a la cepa ATCC. Se consideró que las cepas que se salían de los criterios de aceptabilidad eran fruto de un error aleatorio no grave (tabla 1).

Con estos resultados se tomaron las siguientes medidas: 1) Implantación de una instrucción técnica de cómo realizar un E-test; 2) Introducción en el plan de formación continuada del personal técnico del laboratorio una sesión sobre dicha instrucción técnica haciendo especial hincapié en los fallos

detectados. 3) Introducción de un control interno mensual en cada laboratorio en los que se realiza dicha técnica con una cepa ATCC.

De esta experiencia quisiéramos destacar el papel relevante de la participación en ensayos de aptitud o pruebas de intercomparación en el establecimiento de políticas y procedimientos robustos que garanticen la fiabilidad de los resultados emitidos. Del mismo modo, quisiéramos remarcar la utilidad de los programas de calidad en los centros sanitarios, que nos permiten detectar errores e iniciar las acciones correctivas con objeto de mejorar la eficacia de nuestros laboratorios y la mejor asistencia a nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Gómez-Garcés JL, López-Faba IF, Burillo A, Yolanda Gil A. "Estudio comparativo de Wider, E-test y microdilución para la determinación de la sensibilidad a daptomicina y otros tres antimicrobianos de aislamientos clínicos de *Staphylococcus* spp. resistentes a meticilina y *Enterococcus* spp". Rev Esp Quimioter 2010; 23: 87-92.
- García-Rodríguez JA, Cantón R, García Sánchez JE, Gómez-Lus ML, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 11. "Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos" en Picazo JJ, "Procedimientos en Microbiología Clínica". (<http://www.seimc.org/>) 1ª edición. 2000.