

Procedimiento de Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica



66.

Diagnóstico microbiológico en el lugar de asistencia al paciente

Editores

Emilia Cercenado Mansilla
Rafael Cantón Moreno

Coordinador

Mario Rodríguez Domínguez

Autores

Mario Rodríguez Domínguez
Francisco Franco Álvarez de Luna
María José Goyanes Galán
Julio García Rodríguez



ISBN: 978-84-09-12868-6

EDITORES:

Emilia Cercenado Mansilla. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.
Rafael Cantón Moreno, Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid.

SUGERENCIA DE CITACIÓN:

Rodríguez Domínguez M, Franco Álvarez de Luna F, Goyanes Galán MJ, García Rodríguez J. Diagnóstico microbiológico en el lugar de asistencia al paciente. 2019. 66. Mario Rodríguez Domínguez (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2019.

AVISO:

Reservados todos los derechos. Los documentos SEIMC o cualquiera de sus partes no podrán ser reproducidos, almacenados, transmitidos, distribuidos, comunicados públicamente o transformados mediante ningún medio o sistema sin la previa autorización de sus responsables, salvo excepción prevista por la ley. Cualquier publicación secundaria debe referenciarse incluyendo "Este documento ha sido elaborado por la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y su contenido puede encontrarse en la página web www.seimc.org"

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores:

Emilia Cercenado Mansilla

Rafael Cantón Moreno

66. Diagnóstico microbiológico en el lugar de asistencia al paciente. 2019

Coordinador:

Mario Rodríguez Domínguez¹

Autores:

Mario Rodríguez Domínguez¹

Francisco Franco Álvarez de Luna²

María José Goyanes Galán³

Julio García Rodríguez⁴



¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria. CIBER en Epidemiología y Salud Pública. Madrid;

²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Huelva;

³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid;

⁴Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

INDICE DE CONTENIDOS

1.	Introducción.....	5
2.	Objetivos y Justificación.....	5
3.	Definiciones	6
4.	Legislación	7
5.	Normativa de calidad. ISO 15189 e ISO 22870.....	9
6.	Evaluación de las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia y autodiagnóstico.....	9
	6.1 Justificación de la necesidad clínica	9
	6.2. Estudios de coste-efectividad.....	10
7.	Tipos de pruebas. Características técnicas y operativas.....	11
	7.1. Pruebas basadas en la detección directa de antígenos.....	11
	7.2. Pruebas basadas en la amplificación y detección específica de ácidos nucleicos.....	13
	7.3. Enfoque sindrómico del diagnóstico microbiológico en el lugar de asistencia al paciente.....	14
8.	Pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia al paciente aplicables al diagnóstico de procesos infecciosos.....	14
	8.1. Infecciones del tracto respiratorio.....	14
	8.1.1 Infecciones bacterianas.....	14
	8.1.2 Infecciones de origen vírico.....	15
	8.2. Infecciones del sistema nervioso central	20
	8.3 Sepsis.....	22
	8.4 Infecciones del aparato digestivo.....	24
	8.5 Infecciones tropicales y relacionadas con viajes.....	25
	8.6 VIH, Hepatitis e infecciones de transmisión sexual (ITS)	26
9.	Implementación de pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia al paciente.....	28
	9.1 Consideraciones en función del nivel de implementación.....	28
	9.1.1 Pruebas realizadas por el propio paciente.....	28
	9.1.2 Pruebas realizadas en Atención Primaria.....	29
	9.1.3 Pruebas realizadas a nivel hospitalario.....	29
	9.2 Aspectos organizativos.....	30
	9.2.1 Necesidades de instrumentación y soportes informáticos	30
	9.2.2 Formación de recursos humanos.....	30
	9.2.3 Gestión y validación de resultados	30
	9.3 Evaluación continua y control de calidad.....	31
	9.4 Centralización. El laboratorio <i>point of care</i> de Microbiología.....	32
10.	Perspectivas futuras.....	33
11.	Bibliografía.....	34

DOCUMENTOS TÉCNICOS

PNT-POC-01 Detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* en muestras faríngeas.

PNT-POC-02 Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial.

PNT-POC-03 Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central.

1. INTRODUCCIÓN

La Microbiología Clínica ha alcanzado un alto nivel de desarrollo tanto en el conocimiento profundo de la interacción de los microorganismos con el ser humano como en la mejora de las pruebas diagnósticas cada vez más sensibles y específicas. Sin embargo, el gran caballo de batalla del diagnóstico microbiológico siempre ha sido su dependencia del cultivo, lo que exige el inamovible periodo de incubación de al menos 16-18 horas desde la recepción de la muestra. La necesidad clínica de obtener resultados en las primeras horas de atención al paciente choca con esta realidad. Paradójicamente, la historia de la Microbiología comienza a escribirse con el descubrimiento de lo que hoy podríamos llamar una “prueba rápida”, la microscopía (Antonie van Leeuwenhoek, 1632-1723), posteriormente desarrollada mediante tinciones capaces de categorizar los agentes infecciosos en cuestión de minutos. Más recientemente se desarrollaron las pruebas serológicas que o bien detectaban antígenos específicos de patógenos circulantes, o anticuerpos producidos por el huésped como respuesta a la infección, aumentando así la capacidad de diagnosticar de forma rápida y sensible muchas enfermedades infecciosas, algunas de ellas causadas por microorganismos que no se pueden cultivar fácilmente. De hecho, todavía constituyen una parte muy importante de los laboratorios de diagnóstico microbiológico. En los últimos años, el desarrollo de la genómica y la proteómica junto con el avance tecnológico están dibujando un nuevo escenario en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, la complejidad de estas técnicas junto con la utilización de equipos sofisticados, dificultan su incorporación en estructuras de diagnóstico rápido cerca de los pacientes y fuera de los laboratorios. Por otra parte, actualmente existe una tendencia centralizadora de los laboratorios que se traduce en la creación de “megaorganizaciones” capaces de procesar un gran número de muestras de forma ininterrumpida durante las 24 horas del día. Sin embargo, en el caso de la Microbiología, esta centralización conlleva un alejamiento del paciente de los servicios diagnósticos, lo que obstaculiza la incorporación de técnicas rápidas por el retraso insalvable que supone el transporte de las muestras a los grandes laboratorios centrales. De esta realidad surge el desarrollo de pruebas y procedimientos capaces de compensar esta demora diagnóstica, e incluso el concepto de laboratorios de diagnóstico rápido.

Las pruebas diagnósticas en el lugar de atención al paciente (denominadas en la literatura médica como POC, acrónimo del inglés *point of care*) ofrecen ventajas cuando se requiere una respuesta rápida para el manejo de este, o cuando no es posible disponer de instalaciones sanitarias de cierta complejidad. Por ello, la necesidad de pruebas más accesibles para ayudar a la toma de decisiones clínicas está impulsando su expansión. Los esfuerzos de la comunidad científica continúan avanzando en el desarrollo de pruebas que mejoren en sensibilidad y especificidad al tiempo que disminuyan el tiempo de respuesta y la complejidad. Al mismo tiempo se desarrollan nuevos flujos de trabajo para incorporar pruebas rápidas y pruebas POC. Estas pruebas pueden mejorar la atención del paciente y la salud pública al reducir la progresión y diseminación de la enfermedad y optimizar el tratamiento. Si bien estas pruebas diagnósticas rápidas tienen el potencial de brindar resultados oportunos para tomar decisiones, se necesita experiencia y conocimiento para guiar su implementación, su utilización y su interpretación de forma que se garanticen los máximos beneficios.

En el presente documento se mencionan marcas comerciales de diferentes pruebas POC. Las pruebas que se describen se han tomado como ejemplo de los sistemas disponibles en el mercado en el momento de la escritura de este procedimiento sin pretender realizar una revisión exhaustiva o sistemática. Su mención en este procedimiento no supone un aval por parte de la SEIMC respecto a la utilización de las mismas. Cada laboratorio o Servicio de Microbiología deberá elegir aquel sistema que más se adapte a su organización y a sus objetivos diagnósticos.

2. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

El avance tecnológico, la automatización y la simplificación están dibujando un nuevo escenario en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Tras la aparición de las primeras pruebas POC basadas en inmunoensayos de flujo lateral, en los últimos años asistimos a un nuevo nivel con el desarrollo de ensayos moleculares para la detección de material genómico, que con una mínima complejidad y equipamiento

son capaces de proporcionar resultados en minutos. Las propias características operativas de estos ensayos los habilitan para su uso descentralizado fuera del laboratorio y por personal sin formación previa en diagnóstico microbiológico. Esta situación puede generar un uso inadecuado no solo por una incorrecta elección del propio ensayo, sino por el desconocimiento de aquellos factores que van a influenciar de forma directa los resultados proporcionados por dicha prueba. Estos factores abarcan desde la elección de la muestra más adecuada, su manipulación correcta para evitar resultados inválidos y problemas de bioseguridad, hasta una correcta interpretación, validación de los resultados o los controles de calidad.

El papel de los laboratorios de Microbiología Clínica consiste en asegurar un uso seguro y eficiente de los recursos diagnósticos existentes, proporcionando resultados fiables y de alta calidad. Es, por lo tanto, responsabilidad del Microbiólogo Clínico la elección de las técnicas y ensayos más adecuados, la implementación e incorporación de estos a los procedimientos y algoritmos diagnósticos, así como la supervisión y validación tanto de su ejecución como de los resultados proporcionados. Sólo de esta forma se puede asegurar el máximo beneficio de la incorporación de estas pruebas con las mayores garantías para los pacientes.

El objetivo de este procedimiento es revisar el estado actual del POC en el campo de las enfermedades infecciosas y recopilar la información existente en cuanto al marco normativo y los requisitos a tener en cuenta en la implementación, supervisión y evaluación de estas pruebas diagnósticas.

3. DEFINICIONES

En los últimos años son muchos los términos empleados para referirse a este tipo de pruebas, “test rápidos”, “pruebas a la cabecera del paciente”, “pruebas descentralizadas”, “pruebas periféricas”, incluso más recientemente “pruebas de autodiagnóstico”. Tampoco existe una definición universal, el Colegio Americano de Patólogos define POC como “*pruebas diseñadas para su uso junto o cerca del paciente, que no requieren un espacio permanente y realizadas fuera de las instalaciones del laboratorio clínico*”. La norma ISO 22870 las define como “*pruebas llevadas a cabo cerca o en el lugar de atención del paciente, cuyo resultado da lugar a un posible cambio en el cuidado del paciente*”. Por otro lado, el Reglamento del Parlamento Europeo 2017/746 se refiere a prueba diagnóstica en el lugar de asistencia del paciente como “*todo producto no destinado al autodiagnóstico, sino a la realización de las pruebas fuera del laboratorio, generalmente cerca del paciente o a la cabecera del paciente, por un profesional sanitario*”; considerando producto para autodiagnóstico a “*todo producto destinado por el fabricante a ser utilizado por profanos, con inclusión de los productos utilizados para los servicios de autodiagnóstico que se ofrecen a profanos a través de servicios de la sociedad de la información*”. Esta última diferenciación podría ser equivalente a la que establecen los *Centers for Disease Control (CDC)* y la *Food and Drug Administration (FDA)* americanos en sus *Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)* para los que una prueba POC es “*toda prueba o test que emplea un método analítico y es utilizado en un entorno diagnóstico remoto a un laboratorio centralizado*” y establece una diferencia para las pruebas exentas de CLIA como aquellas que “*son tan sencillas de realizar que, la probabilidad de que se produzcan errores de manipulación y resultados por parte del usuario es despreciable*”. Según esta diferenciación estas últimas pueden utilizarse tanto en un laboratorio centralizado como en el lugar de atención del paciente. Las pruebas de alta y moderada complejidad se caracterizan por requerir una mayor capacitación y experiencia por parte del operador y se limitan a laboratorios centrales bien establecidos como los conocemos en la actualidad en nuestro país.

Desde el punto de vista del diagnóstico microbiológico nos parece importante hacer una diferenciación entre pruebas POC *sensu stricto* y otras técnicas rápidas, principalmente basadas en métodos moleculares (POCmol), que, aunque sencillas desde un punto de vista operativo, presentan cierto grado de complejidad en alguno de los puntos del proceso analítico. En la tabla 1 se resumen algunas de las diferencias más importantes en relación a estos dos tipos de técnicas.

Tabla 1. Características diferenciadoras entre pruebas POC y pruebas rápidas.

CARACTERÍSTICA	POC	PRUEBA RÁPIDA
Muestras no invasivas	SI	SI
Muestras invasivas	NO	SI
Necesidad de equipamiento	NO	SI
Grado de multiplexado	BAJO	MEDIO-ALTO
Cualificación del personal que realiza la técnica	BAJO	MEDIO-ALTO
Riesgo en la interpretación de resultados	BAJO	MEDIO-ALTO
Tiempo óptimo de respuesta	<15 minutos	30 minutos-2 horas
Requisitos especiales de bioseguridad	NO ^a	SI ^b
Posibilidad de externalización	SI	NO ^c

^a En casos de muestras de sangre capilar adoptar medidas estándar de bioseguridad. ^b En caso de muestras invasivas, muestras estériles y/o que requieran procesamiento en campana de seguridad biológica. ^c Sería posible su realización en determinadas unidades bajo supervisión facultativa de un especialista en Microbiología.

4. LEGISLACIÓN

Hasta 2017, todos los sistemas y pruebas diagnósticas, utilizadas en los estados miembros de la Comunidad Europea, debían cumplir los requisitos establecidos en la Normativa Europea 98/79/EC sobre diagnóstico *in vitro*, modificada en 2010 por la Comisión Europea. Esta normativa no hace una alusión específica a las pruebas rápidas ni a los POC, por lo que a estas no se les supone ningún requerimiento específico más allá de los exigibles a cualquier otra prueba o dispositivo destinado al diagnóstico *in vitro*. Es por esto que con el objetivo de regularizar y mantener los más altos estándares de protección y seguridad de la salud, algunos países han establecido sus propias recomendaciones en relación al uso de estas pruebas. En Estados Unidos, la *Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations* (JCAHO) y el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), disponen de recomendaciones específicas en este tema. En Reino Unido, el *Standards for the Medical Laboratory, Clinical Pathology Accreditation* (UK) establece recomendaciones específicas para los POC. En Irlanda varias sociedades publicaron un documento de recomendaciones para el uso de las pruebas POC en atención primaria. La Sociedad Brasileña de Patología Clínica/ Medicina de Laboratorio, publicó en el 2004 “Directivas para la gestión y garantía de la calidad de puntos periféricos de obtención y recogida de especímenes (POC)”. En dicho país ya existe una regulación que obliga a los laboratorios clínicos a supervisar el uso de estos dispositivos. El Instituto de Salud Pública de Chile recomienda adquirir aquellos POC que presenten certificaciones de fabricación ISO 13485 o certificaciones de la Comunidad Económica Europea (CEE) que den cumplimiento a la Directiva 98/79/CE o que cuenten con aprobación FDA.

En el año 2017, se publica el Reglamento 2017/746 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro* y por el que se derogan la Directiva 98/79/CE y la Decisión 2010/227/UE de la Comisión. Este documento clasifica los sistemas y dispositivos de diagnóstico *in vitro* en 5 clases (A-D) en función de sus características y los usos a que están destinados. Mientras que los dispositivos de autodiagnóstico se engloban en la clase C, no establece una categoría específica para los POC, literalmente “los productos para pruebas diagnósticas en el lugar de asistencia al paciente se clasifican por sí mismos”. Dentro de la Clase C se englobarían los productos destinados a:

- a) “La detección de la presencia de un agente de transmisión sexual o la exposición al mismo.
- b) La detección en el líquido cefalorraquídeo o la sangre de la presencia de un agente infeccioso sin un riesgo elevado o supuestamente elevado de propagación.
- c) La detección de la presencia de un agente infeccioso, si existe un riesgo importante de que un resultado erróneo cause la muerte o una discapacidad grave del feto, del embrión o de la persona objeto de ensayo, o de la descendencia de esta persona.
- d) La determinación, a efectos de monitorización prenatal de las mujeres, el estado inmunológico de las mujeres frente a patógenos transmisibles.

- e) La determinación del estado inmunológico o de infección, si existe un riesgo de que un resultado erróneo induzca a tomar una decisión que pueda poner en peligro inminente la vida del paciente o de su descendencia.
- f) Ser utilizados como pruebas diagnósticas para selección terapéutica.
- g) Ser utilizados para la estadificación de una enfermedad, cuando exista un riesgo de que un resultado erróneo induzca a tomar una decisión que pueda poner en peligro la vida del paciente o de su descendencia.
- h) Ser utilizados en el cribado, el diagnóstico o la estadificación del cáncer.
- i) La realización de pruebas genéticas humanas.
- j) El seguimiento del nivel de medicamentos, sustancias o componentes biológicos, si existe un riesgo de que un resultado erróneo induzca a tomar una decisión que pueda poner en peligro la vida del paciente o de su descendencia.
- k) La gestión de los pacientes con una enfermedad o condición que ponga en peligro la vida.
- l) El cribado para detectar trastornos congénitos en el embrión o en el feto.
- m) El cribado para detectar trastornos congénitos en los recién nacidos, cuando la omisión de la detección y el tratamiento de tales trastornos pueda poner en peligro la vida o ser causa de discapacidad grave.”

Los fabricantes de productos de pruebas de autodiagnóstico y/o POC incluidas en cualquiera de las clases, deberán presentar documentación técnica acreditativa a un comité evaluador que será el responsable de evaluar y verificar la conformidad del producto. Si el producto es conforme se expedirá un certificado de la Unión Europea en el que constarán las conclusiones de la evaluación, las condiciones de su validez, los datos necesarios para la identificación de los productos aprobados y, en su caso, una descripción de la finalidad prevista del producto.

Este reglamento también establece medidas de protección frente a los riesgos de las pruebas POC y de autodiagnóstico:

- ✓ “Los productos para autodiagnóstico o pruebas diagnósticas en el lugar de asistencia al paciente se diseñarán y fabricarán de forma que funcionen según su finalidad prevista, teniendo en cuenta las habilidades y los medios a disposición del usuario previsto y la influencia de las variaciones que cabe anticipar en la técnica y el entorno del usuario previsto. La información y las instrucciones que proporciona el fabricante serán de fácil comprensión y aplicación para que el usuario previsto pueda interpretar correctamente el resultado proporcionado por el producto y para evitar información que se preste a confusión. En el caso de pruebas diagnósticas en el lugar de asistencia al paciente, la información y las instrucciones facilitadas por el fabricante deberán precisar el nivel de formación, cualificaciones y/o experiencia requerida por el usuario.
- ✓ Los productos para autodiagnóstico o pruebas diagnósticas en el lugar de asistencia al paciente se diseñarán y fabricarán de forma que:
 - a) se garantice que el producto pueda ser utilizado de forma segura y fiable por el usuario previsto en todas las fases del procedimiento, en caso necesario previa formación o información, y b) se reduzca todo lo posible el riesgo de error, por parte del usuario previsto, en la manipulación del producto y, en su caso, de la muestra y también en la interpretación de los resultados.
- ✓ Los productos para autodiagnóstico o pruebas diagnósticas en el lugar de asistencia al paciente dispondrán, cuando sea factible, de un procedimiento por el que el usuario previsto:
 - a) pueda verificar que, en el momento de su utilización, el producto funciona de acuerdo con lo previsto por el fabricante, y b) reciba una advertencia si el dispositivo no ha dado un resultado válido”.

En nuestra opinión, estos requisitos sólo se podrán garantizar si todo el proceso analítico, desde la evaluación y selección de las pruebas hasta la validación de los resultados, esta supervisado por un especialista con las competencias adecuadas en el área de diagnóstico a la que vaya dirigida dicha prueba.

5. NORMATIVA DE CALIDAD. ISO 15189 E ISO 22870

En la actualidad son muchos los laboratorios de Microbiología que cuentan con sistemas de gestión de la calidad bajo la normativa ISO 9001. La aplicación de esta norma certifica la calidad de los procesos y servicios que se llevan a cabo en cualquier tipo de organización, asegurando que el servicio prestado cumple unos requisitos mínimos de calidad. Sin embargo, esta norma no hace referencia a los aspectos técnicos de los servicios prestados. La norma ISO 15189 está destinada no solo a la implantación de un sistema de gestión de la calidad, sino de forma específica a garantizar la competencia de los procesos que se llevan a cabo en los laboratorios clínicos, de forma que un proceso acreditado bajo los estándares de esta norma garantiza, no solo que cumple con unos estándares mínimos de calidad, sino que el responsable de dicho proceso cuenta con la competencia técnica necesaria para asegurar su calidad y validez, desde la petición de la muestra hasta la validación de los resultados.

Es oportuno recordar en este punto que las pruebas POC están destinadas al diagnóstico y por lo tanto su utilización, independientemente del lugar de realización, deberá estar sometida a los mismos estándares de calidad que cualquier otra prueba diagnóstica. Esto en sí supone la necesidad de un control y supervisión, por parte de los laboratorios especializados, que garantice la fiabilidad, seguridad y validez de los resultados proporcionados. Estas pruebas deben ser consideradas como parte del diagnóstico realizado en el laboratorio y por tanto incorporadas en su sistema de gestión de la calidad. La capacidad de ser realizada de forma externa al laboratorio y por personal no específicamente entrenado aumenta el riesgo de un uso inadecuado y unos resultados erróneos que pongan en riesgo la seguridad del paciente.

La norma ISO 22870:2006, actualizada en 2016, establece los requerimientos específicos para la acreditación del diagnóstico POC independientemente que este se lleve a cabo a nivel hospitalario o ambulatorio. La aplicación de esta norma debe ir estrechamente en conjunción con la norma ISO 15189 de acreditación del laboratorio clínico. La implantación de estos sistemas de gestión de la calidad y la competencia garantiza:

- ✓ Una correcta evaluación y selección de las pruebas
- ✓ El control de los procedimientos pre-analíticos, analíticos y post-analíticos
- ✓ El control de la información y los procesos
- ✓ La formación del personal y requisitos técnicos
- ✓ Control de equipos y bioseguridad
- ✓ Mejora continua, acciones preventivas y correctivas
- ✓ Criterios de validez de los resultados y aseguramiento de la calidad

Esta norma no hace una referencia específica a las pruebas de autodiagnóstico pero le son aplicables gran parte de los criterios incluidos en ella.

6. EVALUACIÓN DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA Y AUTO-DIAGNÓSTICO

6.1. JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD CLÍNICA

Las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia y autodiagnóstico (POC) desarrolladas actualmente son rápidas, tienen baja complejidad, se pueden realizar cerca del paciente con significativas disminuciones de los tiempos de respuesta para poder alcanzar un diagnóstico e instaurar un tratamiento adecuado. Los desafíos que plantean actualmente las enfermedades infecciosas son muchos y los POC pueden ayudar a resolver algunos de estos:

- a) Manejo rápido y eficaz de pacientes gravemente infectados. Es de sobra conocido que la instauración precoz de tratamientos eficaces impacta de forma muy significativa en el pronóstico de pacientes muy graves, especialmente aquellos con sepsis o shock séptico.

- b) Optimización del uso de antimicrobianos:
- Disminución del uso injustificado de antibióticos. Aquellas pruebas que son capaces de discriminar fácilmente entre una infección vírica y una infección bacteriana, como los que detectan el antígeno de *Streptococcus* del grupo A en las faringitis, permiten la prescripción de antibióticos solo cuando se detecta esta bacteria.
 - Bacterias multirresistentes. Actualmente, las alternativas terapéuticas disponibles frente a muchas infecciones se han reducido drásticamente por la aparición de bacterias multirresistentes. La detección rápida de los genes de resistencia directamente sobre la muestra, puede conducir a un mejor manejo inicial de estos pacientes.
- c) Utilidad en Salud Pública:
- Detección rápida de agentes emergentes y contención de brotes. El uso de sistemas rápidos que detectan a pacientes colonizados por bacterias multirresistentes o patógenos emergentes, ayuda al rápido establecimiento de medidas de barrera que impidan su diseminación por los centros hospitalarios y la comunidad.
 - Diagnóstico precoz de microorganismos fácilmente transmisibles en la comunidad (tuberculosis, patógenos de transmisión sexual), que permite la identificación y el aislamiento de posibles portadores a nivel comunitario.

6.2. ESTUDIOS DE COSTE-EFECTIVIDAD

Existen varios estudios que evalúan el coste que supone la incorporación de los sistemas POC en comparación con el diagnóstico microbiológico tradicional en el laboratorio. Aunque se espera que en los próximos años haya una reducción significativa del precio de estas pruebas, actualmente muchas técnicas POC son más caras que las pruebas convencionales desarrolladas en los laboratorios de Microbiología Clínica. Es necesario por tanto la evaluación económica de dichos métodos diagnósticos antes de su introducción definitiva. Dichos estudios, deberán tener en cuenta no solo los costes directos derivados de su realización, sino otras variables tales como la mejoría en los resultados clínicos, la reducción en la transmisión de enfermedades, la optimización del uso de pruebas diagnósticas más costosas, una interacción más ágil del paciente con la institución, la reducción de la utilización inadecuada de antibióticos, una mayor satisfacción del paciente, e incluso una disminución de visitas repetidas y reingresos por un manejo adecuado precoz.

Los resultados obtenidos en los estudios que evalúan diferentes estrategias de diagnóstico de varias enfermedades infecciosas, muestran que, en la mayor parte de los casos, la implementación de este tipo de pruebas es coste-efectiva, aunque en muchas ocasiones depende directamente del algoritmo diagnóstico en el que se incorporen.

Los estudios del diagnóstico rápido de tuberculosis mediante POC molecular han demostrado ser coste-efectivos en países en vías de desarrollo con alta prevalencia de la enfermedad cuando se incorporan a los algoritmos diagnósticos, ya sea sustituyendo a las baciloscopias o complementando a las mismas. Estos resultados también se confirman al utilizar esta tecnología en el diagnóstico de tuberculosis en países desarrollados con menor prevalencia de la enfermedad. Sin embargo, el factor prevalencia tiene una enorme importancia en el grado de coste-efectividad, de tal forma que, en los países en vías de desarrollo con mayores tasas de tuberculosis, estas técnicas son mucho más coste-efectivas que en los países más desarrollados con menores prevalencias.

Se han obtenido resultados similares cuando se ha investigado el impacto del diagnóstico rápido de la gripe mediante PCR en tiempo real en un área de urgencias hospitalarias. El tiempo de espera hasta obtener el resultado, se redujo significativamente en comparación con una técnica de PCR "casera", lo que permitió un manejo más eficiente de los pacientes del área de urgencias, menor tiempo de espera y menor tiempo de aislamiento de los pacientes con sospecha de infección por gripe.

Existen diferentes grupos que también han valorado el diagnóstico rápido de las infecciones de transmisión sexual en diversos contextos. Recientemente, en un estudio se han estimado los costes y beneficios

que tendría la incorporación de un test molecular rápido para el diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en una población de 1,2 millones de potenciales pacientes. El test introducido resultó ser 13 millones de libras más barato que la técnica microbiológica tradicional, se asociaba a un incremento en 46 AVACS (años de vida ajustados por calidad de vida), podría haber evitado 95.000 tratamientos inapropiados, prevenido 189 casos de enfermedad inflamatoria pélvica y, más de 17.000 transmisiones anuales en la comunidad.

Tradicionalmente, el manejo de los enfermos de malaria en los países con limitados recursos económicos, se basa en el uso generalizado de fármacos antimaláricos ante la sospecha de enfermedad. El encarecimiento de los mismos y la aparición de resistencia de *Plasmodium spp.* a diferentes tratamientos conlleva una imperiosa necesidad de un diagnóstico más específico de la enfermedad. Las pruebas de diagnóstico rápido pueden mejorar la especificidad a la hora de instaurar una terapia antimalárica, disminuyendo los tratamientos inadecuados, las reacciones adversas y los enmascaramientos de otras enfermedades infecciosas que podrían pasar desapercibidas. Diferentes grupos están estudiando la utilidad de su uso sobre el terreno en áreas de gran endemia. En un estudio realizado en población infantil en zonas rurales de Uganda se valoraron las diferencias entre dos estrategias, el tratamiento de los casos con sospecha de paludismo y el tratamiento guiado por las pruebas de diagnóstico rápido, en dos áreas con diverso grado de incidencia de malaria. Aunque la utilización de POC aportó una mejora en la adecuación de los tratamientos en todos los casos, se obtuvieron mejores resultados desde el punto de vista de coste-efectividad en las áreas de riesgo de transmisión alto-moderado que en las de bajo riesgo.

El diagnóstico rápido de infección por el VIH, es otro campo de desarrollo para los POC incluyendo el autodiagnóstico. La instalación de puntos diagnósticos en la zona de urgencias para el cribado rápido de VIH ha sido evaluada comparándola con las pruebas de diagnóstico realizado por el personal sanitario. Los resultados del estudio sugieren que su utilización es potencialmente más coste-efectiva que la realización de pruebas por el personal sanitario en un servicio de urgencias.

Teniendo en cuenta las conclusiones de los estudios realizados en diferentes contextos socioeconómicos y con diferentes patologías, antes de la implementación de cualquier POC en el diagnóstico microbiológico, habría que considerar:

- a) Prevalencia de la enfermedad a estudiar.
- b) Tipo de test utilizado: inmunocromatografía, PCR, etc.
- c) Equipamiento adicional necesario para la realización del estudio.
- d) Complejidad en la obtención, manipulación de la muestra y realización del test.
- e) Tiempo de respuesta.
- f) Calidad de los resultados: cualitativos, cuantitativos, sensibilidad, especificidad, etc.
- g) Algoritmos diagnósticos en los que se va a incorporar.
- h) Potencial impacto de los resultados en el manejo clínico del paciente.
- i) Incremento de costes derivados.

7. TIPOS DE PRUEBAS. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS Y OPERATIVAS

7.1. PRUEBAS BASADAS EN LA DETECCIÓN DIRECTA DE ANTÍGENOS

Las técnicas de *point of care* de detección de antígeno (POCAg) más extendidas, son aquellas que pueden detectar rápidamente antígenos de microorganismos a través de técnicas inmucromatográficas (ICT). Estas pruebas también denominadas *lateral flow* o de flujo lateral o "técnicas en tira", básicamente dependen de la unión del antígeno en cuestión presente en la muestra clínica a un anticuerpo primario conjugado con oro coloidal o un marcador fluorescente, para ser detectado de manera visual o automatizada en un lector.

Este complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) migrará sobre el efecto de un tampón de dilución por capilaridad

sobre un sustrato sólido, que será capturado por un anticuerpo secundario anclado en el soporte físico de la prueba, que lleva a la aparición de una banda de color inicial, mientras que el exceso de anticuerpos primarios conjugados continúa migrando a un segundo punto de captura con anticuerpos terciarios, lo que lleva a la aparición de una segunda banda de color. La lectura de este tipo de pruebas suele realizarse a los 10 ó 15 minutos y la interpretación se realiza de manera visual: de la primera banda (si está presente, refleja la detección del antígeno diana y por lo tanto la prueba es positiva) y la visualización de la segunda banda (si está presente, indica que el resultado de la prueba es interpretable).

Las técnicas de ICT están disponibles en varios formatos, cuyos resultados se pueden leer visualmente o utilizando un lector, siendo este último obligatorio en aquellos casos en los que la técnica presenta un anticuerpo primario con un marcador fluorescente. Actualmente las técnicas de detección de antígeno están disponibles para el diagnóstico de bacterias, virus, parásitos y hongos (Tabla 2). Incluso algunos dispositivos, permitirían un enfoque sindrómico del diagnóstico ya que pueden detectar varias dianas a la vez. La principal ventaja de las técnicas de ICT son la rapidez de resultados (10-15 minutos), la falta de instrumentación necesaria para su realización, y su bajo coste. No necesitan una fuente de energía y además son fáciles de transportar y almacenar debido a su tamaño y su resistencia a las variaciones de temperatura. La mayoría de ellas permiten un almacenaje a temperatura ambiente. Aunque los lectores automáticos mejoran la sensibilidad y precisión; aquellos que no requieren equipos cuando sus resultados se leen visualmente, son útiles en aquellas zonas de escasos recursos.

Los dos principales inconvenientes de los POCAg, son su sensibilidad variable en función del tipo de patógeno, muestra y prevalencia de la enfermedad, y el hecho de que la interpretación visual de los resultados dependa de la subjetividad del operador, fundamentalmente en aquellos casos de débil positividad, lo que podría llevar a resultados falsos positivos y falsos negativos, aunque el desarrollo en los últimos años de lectores automatizados han mejorado la trazabilidad de este tipo de técnicas y la objetividad en la interpretación de los resultados. Sin embargo, pueden ser muy útiles en determinadas infecciones víricas en la población pediátrica, donde las cargas virales son elevadas en la muestra clínica y la sensibilidad de las técnicas POCAg puede ser adecuada. Por otro lado, su empleo, disminuye los tiempos de respuesta, el uso de otras pruebas diagnósticas auxiliares (radiología, análisis bioquímico, o incluso la punción lumbar), y principalmente reduce la prescripción de antibióticos innecesarios. Existen estudios que destacan la utilidad de las técnicas de detección de antígeno frente al virus respiratorio sincitial (VRS) en el manejo del tratamiento y la prescripción de antibióticos, así como la gestión de cohortes en los Servicios de Urgencias y Hospitalización pediátrica. También pueden ser muy útiles para la identificación de brotes en residencias de ancianos, cruceros o escuelas infantiles.

Tabla 2. Principales pruebas de detección de antígeno y muestras clínicas adecuadas para el diagnóstico de diferentes síndromes clínicos.

Síndrome	Microorganismo	Muestra
Faringitis	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Exudado faríngeo
Gripe	Virus influenza A y B	Exudado nasofaríngeo Aspirado nasofaríngeo
Infección respiratoria vías altas	Virus Respiratorio Sincitial	Exudado nasofaríngeo Aspirado nasofaríngeo
Neumonía	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i>	Orina
Gastroenteritis aguda (GEA)	Rotavirus Adenovirus Norovirus <i>Campylobacter</i> spp. <i>Clostridioides difficile</i>	Heces
Dispepsia / Úlcera Gástrica	<i>Helicobacter pylori</i>	Heces
ITS	Virus Herpes Simple <i>Trichomonas vaginalis</i>	Exudado úlcera genital
Fiebre tropical	<i>Plasmodium</i> spp. Virus Dengue Virus de la Fiebre amarilla	Sangre
Infección por el VIH	VIH	Sangre

7.2. PRUEBAS BASADAS EN LA AMPLIFICACIÓN Y DETECCIÓN ESPECÍFICA DE ÁCIDOS NUCLEICOS

La preocupación por la baja sensibilidad clínica de algunas técnicas POCag ha llevado a un esfuerzo considerable para desarrollar técnicas diagnósticas moleculares que puedan proporcionar una alta sensibilidad y un diagnóstico rápido en un entorno de POC. El rendimiento de las técnicas de detección de antígeno depende fundamentalmente de la concentración del mismo en la muestra clínica. Las concentraciones por debajo del límite de detección para la prueba pueden producir por tanto un resultado falso negativo, de manera que los resultados negativos de las pruebas rápidas de detección de antígeno deben interpretarse con precaución.

Las pruebas de amplificación de ácido nucleico (TAAN) que tienen como objetivo detectar una o más secuencias de ARN o ADN específicas, han revolucionado el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Las pruebas basadas en la amplificación y detección de ácidos nucleicos, para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, se han venido realizando en los laboratorios de referencia que utilizan instrumentación especializada y personal cualificado y entrenado para ello. Sin embargo, en los últimos años, han surgido nuevas plataformas con el objetivo de simplificar las técnicas y, tecnológicamente estas TAAN, proporcionando resultados de forma rápida y con menor complejidad (POCmol). Estas técnicas en comparación con las anteriores, suelen ser más costosas, aunque debería valorarse realmente el coste de un mejor manejo del paciente, tratamiento, control y contención de la enfermedad. Este tipo de técnicas y dispositivos deben ser asequibles, robustos y fáciles de usar por personal con una mínima capacitación, con reactivos estables y listos para su uso, con una instrumentación sencilla, libre de mantenimiento y resultados claros y prácticos, además de ser adecuadamente sensibles y específicos.

Actualmente hay dos tipos de técnicas moleculares para pruebas POC: aquellas basadas en PCR y las técnicas basadas en la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos:

- a) Las técnicas de PCR requieren entre 30 a 40 ciclos de amplificación con calentamientos hasta 72°C. Dichas técnicas necesitan equipos específicos y energía eléctrica lo que dificulta su uso en entornos con recursos limitados. Las reacciones tardan entre 20 y 100 minutos, incluida la transcripción inversa para la detección de ARN. La PCR en tiempo real (RT-PCR) es la variante utilizada en las pruebas de POC, que incluye la hibridación de una sonda fluorescente durante cada ciclo de amplificación, lo que aumenta la sensibilidad y la especificidad de la prueba y reduce los tiempos de detección.
- b) Por otro lado, técnicas como la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), son una alternativa para amplificar el ADN por medio de una ADN polimerasa, que opera a una temperatura constante entre 60°C y 65°C. Las técnicas de amplificación isotérmica eliminan la necesidad de un termociclador, por lo que son más económicas, ahorran energía y son fáciles de realizar en un entorno POC.

Una de las ventajas de las TAAN es que tienen mayor sensibilidad que las técnicas rápidas de detección de antígeno, pero requieren un mayor grado de tecnicismo y formación. La escasez de energía y la necesidad de almacenar algunos reactivos a 4° C pueden limitar la implementación de TAAN en los laboratorios de POC en algunos países tropicales con recursos limitados.

Entre los principales problemas en el desempeño de las pruebas exentas de CLIA se han documentado varias, como la capacitación deficiente del personal que maneje la técnica POCmol, la rotación frecuente del mismo, el incumplimiento de las instrucciones de los fabricantes, la falta de comprensión de las buenas prácticas de laboratorio y la falta en la realización de pruebas de control de calidad o mantenimiento del instrumento.

Por otro lado, si bien los costes reales de este tipo de pruebas POCmol dependen de los contratos negociados, los volúmenes de pruebas y otros factores, los costes de los reactivos suelen ser significativamente más altos para las técnicas moleculares que para las pruebas de antígeno. El rendimiento de los equipos

es limitado ya que la mayoría de ellos sólo admiten una muestra a la vez. Para mantener un tiempo rápido de respuesta en periodos de máxima actividad, serían necesarios múltiples equipos que después van a permanecer gran parte de la temporada fuera de uso. Por otro lado, la obtención de resultados invalidados, que requieren repeticiones o una nueva toma de muestra, así como las averías de los instrumentos, pueden constituir un problema adicional, consumir tiempo y recursos.

7.3. ENFOQUE SINDRÓMICO DEL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE

La mayoría de los pacientes que padecen una enfermedad infecciosa, no presentan signos y síntomas que puedan ser patognomónicos de una etiología en particular. Sin embargo, los signos y síntomas clínicos pueden ser indicativos o afectar a algún órgano en particular o circunstancias que puedan exponer al paciente a alguno o varios patógenos concretos. De manera que sería de gran interés poder detectar varios patógenos a la vez en lo que se podría denominar: *enfoque sindrómico de los POC*.

Con este enfoque, se podría estandarizar la toma de muestra por cada síndrome, orientada a acelerar el proceso analítico y hacerlo más eficiente. En función de un síndrome en particular, como la meningitis, encefalitis, infección respiratoria aguda, fiebre de origen desconocido en viajeros, infecciones de transmisión sexual o diarrea, se podría optimizar la toma de muestra, así como el procesamiento mediante el empleo de POCs orientados a la detección de los patógenos responsables.

Este enfoque sindrómico debe responder a tres preguntas básicas relacionadas con el paciente potencialmente infeccioso: ¿se trata de una infección mortal y de una rápida progresión?, ¿requiere asistencia médica especializada u hospitalización? ¿el paciente requiere algún protocolo de aislamiento y/o tratamiento específico?. El establecimiento de este tipo de enfoque sindrómico en el POC requerirá una evaluación previa de la epidemiología de la región geográfica, su población y posibles patógenos emergentes o reemergentes.

8. PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE APLICABLES AL DIAGNÓSTICO DE PROCESOS INFECCIOSOS

8.1. INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO

8.1.1. Infecciones bacterianas

La faringitis/amigdalitis es una de las principales causas de consulta en Atención Primaria y Pediatría. Aunque en la mayoría de los casos la etiología es vírica, hay que descartar al estreptococo beta-hemolítico del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) responsable del 30% de las amigdalitis en niños. Las primeras pruebas diseñadas empleaban técnicas de aglutinación hasta que fueron reemplazadas por las de enzimoimmunoensayo, inmunocromatografía y recientemente por las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), lo que se ha traducido en un aumento de la sensibilidad y especificidad. Los programas de implantación de pruebas rápidas de detección de antígeno (TRDA), han constatado una reducción substancial de las prescripciones de antibiótico. Prácticamente todas las pruebas de ICT se basan en la detección del carbohidrato C, previa solubilización. La especificidad es muy elevada (>95%) sin embargo la sensibilidad es muy variable (70-90%), por lo que una correcta elección de la técnica es fundamental para un máximo beneficio. Un resultado negativo no permite descartar la infección por lo que en caso de alta sospecha clínica es recomendable solicitar cultivo. Por otro lado, el cultivo permite estudiar la sensibilidad a antimicrobianos, importante en el tratamiento con macrólidos, y la obtención de cepas para estudios epidemiológicos.

La neumonía adquirida en la comunidad es una infección común y es la causa más frecuente de muerte de origen infeccioso en los países industrializados. De todos los agentes etiológicos implicados, *Streptococcus pneumoniae* es el más frecuente. La detección en orina del polisacárido C presente en la pared celular de todos los serotipos de neumococo se realiza por inmunocromatografía. La técnica sólo requiere 15 minutos, su sensibilidad es elevada (80-94%) cuando el paciente tiene una neumonía grave o bacteriemia. Aunque la técnica tiene una elevada especificidad (90-100%), en un elevado porcentaje de niños sanos menores de 12 meses es posible detectar antigenurias positivas al tratarse de portadores sanos de neumococos. Por otro lado, la prueba puede ser positiva meses después de superar una infección. También en pacientes con bronquitis crónica es frecuente la colonización del tracto respiratorio inferior con *S. pneumoniae*, siendo positiva la detección de antígeno en orina.

En el diagnóstico de la neumonía por *Legionella pneumophila*, es fundamental la detección de una parte del lipopolisacárido de su pared celular en la orina mediante técnicas de inmunocromatografía. La prueba, tiene una excelente especificidad (99%) pero la sensibilidad es más baja (76%) que la del cultivo de una muestra del tracto respiratorio inferior, aunque se puede aumentar la sensibilidad con un paso previo de concentración de la orina por centrifugación. Aunque menos frecuentemente que en el caso del neumococo, el antígeno de *Legionella pneumophila* también puede detectarse meses después de la infección. Otro punto importante es conocer los serogrupos que detecta la prueba elegida. La mayoría de ICTs detectan el serogrupo 1, por lo que otras especies o serogrupos no serán detectados.

Recientemente ha sido comercializado el panel BioFire FilmArray Pneumonia plus basado en una PCR anidada multiplex que mediante el abordaje sindrómico detecta 27 microorganismos (18 bacterias y 9 virus) más 7 marcadores de resistencia (*mecA/mecC* y MREJ, KPC, NDM, tipo Oxa-48, CTX-M, VIM e IMP), incluyendo bacterias tanto de origen comunitario como nosocomial. La técnica proporciona resultados en aproximadamente 1 hora. Con una sensibilidad superior al 96,2% y una especificidad superior al 97,2%, según las especificaciones del fabricante. Una ventaja de esta técnica es que es capaz de semi-cuantificar 15 bacterias comunes entre valores de $10^{3,5}$ a más de 10^7 copias/mL. Su reciente comercialización hace que sean necesarios más estudios de impacto clínico.

La tuberculosis continúa siendo una de las principales causas infecciosas de muerte a nivel mundial. Entre las estrategias de la OMS para reducir el impacto de estas infecciones, se encuentra la mejora del diagnóstico de laboratorio mediante el empleo de pruebas rápidas. La microscopía continúa siendo la herramienta más efectiva para un diagnóstico rápido de tuberculosis infectiva. Tiene un límite de detección de 10^4 - 10^5 UFC/mL por lo que su sensibilidad no supera el 60% en las mejores condiciones. El sistema Xpert MTB/Rif utiliza la técnica de PCR en tiempo real para la detección del genoma del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, y adicionalmente detecta una región del gen *rpoB* donde se concentran las principales mutaciones de resistencia a rifampicina. Su sensibilidad global es del 90%, aunque algo inferior en determinadas poblaciones (pacientes infectados por el VIH, niños o pacientes con tuberculosis extrapulmonar). Una actualización de esta prueba es el sistema Xpert MTB/Rif Ultra con sensibilidad algo mayor pero menor especificidad. Ambas pruebas realizan una detección semicuantitativa. Aunque es una técnica de escasa complejidad técnica, su elevado coste no justifica la sustitución de la microscopía. Puede resultar de utilidad como confirmación de infección por *M. tuberculosis* en casos de tinción positiva o como prueba adicional en casos de microscopía negativa con una elevada sospecha clínica y/o epidemiológica.

8.1.2. Infecciones de origen vírico

De los 3,9 millones de personas que estima la OMS que sufren infecciones respiratorias agudas cada año, la gran mayoría, son de origen vírico. En niños menores de 5 años, la mortalidad asociada al virus respiratorio sincitial (VRS) y a la gripe asciende a las 300.000 muertes al año, además del importante impacto en las economías que esto supone. Puesto que un diagnóstico exclusivamente clínico no es capaz de diferenciar etiológicamente entre infecciones víricas y bacterianas, dado que los signos y síntomas pueden superponerse, un diagnóstico rápido puede contribuir a reducir el uso excesivo de antibióticos, así como permitir

una mejor gestión de la estancia hospitalaria o la monitorización epidemiológica de cara a Salud Pública.

Mientras que las técnicas rápidas de detección de antígeno han sido un pilar importante de las pruebas POC para la detección de VRS y virus influenza durante los últimos años, la aparición en 2015 de la primera prueba de amplificación de ácidos nucleicos (exenta de CLIA) para la detección de virus influenza aprobada por la FDA, ha supuesto un cambio en el paradigma de las pruebas POC.

Conviene recordar que independientemente del método de diagnóstico empleado, el rendimiento de las pruebas rápidas se ve enormemente afectado por la carga vírica presente en las muestras clínicas. Se ha comprobado que independientemente de la edad, la sensibilidad puede mejorarse cuando las muestras se extraen entre las primeras 24h y 72h después del inicio de los síntomas, que es cuando la excreción viral es máxima. Otras variables que influyen en la carga viral de la muestra son el uso de hisopos flocados, el medio de transporte utilizado y el tipo de muestra recolectada. Los aspirados y los lavados nasales, consideradas las muestras de elección, han sido sustituidas por exudados nasofaríngeos debido a la conveniencia y facilidad de uso, más cómodos para el paciente y para el personal sanitario que realiza la toma de muestra.

Las principales técnicas de detección de antígeno que cumplen con los nuevos estándares de exención de CLIA por la FDA se muestran en la Tabla 3. Actualmente no hay técnicas exentas que no sean exclusivamente para los virus influenza A y B y VRS.

Para mejorar la sensibilidad y la especificidad de las técnicas de detección de antígeno, están disponibles en el mercado dos pruebas que emplean la lectura digital y automatizada. Una de ellas (BD Veritor, Becton Dickinson) basada en la medición de la intensidad de la señal de la línea de ensayo del dispositivo y la otra, con un sistema de lectura automatizada que permite la detección por fluorimetría de los anticuerpos (Sofia, Quidel Corp.). Estos inmunoensayos digitales (IED/DOI) tienen ventajas sobre las lecturas visuales, incluida una mayor sensibilidad, una reducción en la variabilidad del operador, resultados objetivos, mejora la trazabilidad de la muestra y de sus resultados y la posibilidad de conexión con el SIL. En cuanto a los aspectos técnicos, es de destacar que el sistema BD Veritor proporciona resultados más rápidamente que el sistema Sofia, y que este último requiere un paso adicional respecto al primero para la preparación de la muestra. Además, los tiempos de incubación y lectura son ligeramente superiores en el sistema Sofia. Por otro lado, BinaxNOW influenza A & B (Alere Scarborough), ha incorporado un lector de tarjetas Alere Reader, que ha mejorado la sensibilidad de su técnica de segunda generación, así como la trazabilidad y la variabilidad interoperador.

Un punto de inflexión en el desarrollo de las técnicas rápidas de detección de ácidos nucleicos fue sin duda, la pandemia de gripe en 2009. Debido a su mayor sensibilidad, actualmente se consideran el método de elección para la detección de la mayoría de los microorganismos relacionados con infección respiratoria, fundamentalmente virus. Aunque el campo del diagnóstico molecular en el entorno POC es reciente, ya hay varias técnicas moleculares que cumplen con los criterios para su uso. En enero de 2015, la FDA aprobó la primera prueba basada en la amplificación de ácido nucleico a la que se otorgó una exención CLIA, *Alere i influenza A & B*, que inauguró una nueva era en las pruebas de POC

Las técnicas de TAAN exentas emplean varias metodologías (tabla 4), que incluyen (i) la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos, como en la prueba de influenza A&B y VRS de Alere i (Alere Scarborough, Inc., Scarborough, ME, EE.UU.), (ii) transcripción reversa mediante RT-PCR (rtRT-PCR) para las pruebas de Cobas Liat influenza A&B e influenza A&B / RSV (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, EE.UU.) y GeneXpert Xpress Flu o Flu/VRS (Cepheid, Sunnyvale, CA, EE.UU.), (iii) PCR anidada multiplex para el panel respiratorio BioFire FilmArray Rp2plus y BioFire FilmArray Pneumonia plus Panel (bioMérieux - BioFire Diagnostics, Inc., Salt Lake City, UT, EE.UU.) y (iv) RT-PCR seguida de hibridación y visualización colorimétrica en una tira reactiva para Accula Flu A&B (Mesa Biotech, Inc., San Diego, CA, EE.UU.). Todas las técnicas requieren de la adición de la muestra clínica a un cartucho o dispositivo y la colocación de

dicho dispositivo en el instrumento, con la obtención de resultados entre los 15 y los 60 minutos dependiendo de cada prueba y número de microorganismos detectados.

Tabla 3. Principales técnicas rápidas de detección de antígeno de Virus Influenza y VRS, exentas de CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*)

Técnica comercial	Método	Toma de muestra	Requiere instrumentación	Tiempo de respuesta (min)
Virus influenza				
<i>Alere influenza A & B test</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasal	No	10
<i>BD Veritor system Flu A&B</i>	Inmunoensayo digital	Exudado nasal, exudado nasofaríngeo	Analizadores BD Veritor o BD Veritor Plus	10
<i>BinaxNOW influenza A&B</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasal, exudado nasofaríngeo, aspirado nasal, lavado nasal	Alere Reader	15
<i>QuickVue influenza A&B</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasal, exudado nasofaríngeo, aspirado nasal, lavado nasal	No	10
<i>Sofia influenza A&B FIA</i>	Inmunoensayo digital fluorescente	Exudado nasal, exudado nasofaríngeo, aspirado nasal	Analizadores Sofia o Sofia 2	15
Virus Respiratorio Sincitial				
<i>BD Veritor system RSV</i>	Inmunoensayo digital	Exudado nasofaríngeo	Analizadores BD Veritor o BD Veritor Plus	10
<i>BinaxNOW RSV</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasofaríngeo, lavado nasal	No	15
<i>ClearView RSV</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasofaríngeo, aspirado nasal	No	15
<i>QuickVue RSV</i>	Inmunocromatografía	Exudado nasofaríngeo, aspirado nasal, lavado nasal	No	15
<i>Sofia RSV FIA</i>	Inmunoensayo digital fluorescente	Exudado nasal, exudado nasofaríngeo, aspirado nasal	Analizadores Sofia o Sofia 2	15

La técnica de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos de enzima de corte (NEAR) utilizada por Alere i permite una rápida amplificación en un rango de temperatura muy estrecho. Esto elimina la necesidad de termocicladores requeridos para la PCR. Por el contrario, la capacidad de amplificación isotérmica (NEAR) actualmente es limitada para la detección y discriminación de varias dianas a la vez.

La rtRT-PCR, es el método utilizado por Cobas Liat y por GeneXpert Xpress. La técnica Cepheid Xpress Flu presenta dos dianas para influenza A y el tiempo del ensayo es de 30 minutos. El sistema Cobas Liat ofrece resultados en tan sólo 20 minutos. La técnica de BioFire FilmArray emplea una PCR multiplex anidada con 18 dianas virales y 4 bacterianas. Esta técnica realiza un análisis de curvas de fusión posterior a la PCR que diferencia las dianas en función de los picos de temperatura de fusión (T_m), diferentes para cada diana. Los resultados para todos los paneles múltiplex de BioFire FilmArray, son solo cualitativos. Los instrumentos con exención de CLIA, Alere i y Cobas Liat solo aceptan una muestra a la vez. Por lo tanto, si se desea aumentar el rendimiento, deberían instalarse varios equipos.

Con la excepción de BioFire FilmArray, las POCmol exentas de CLIA detectan solamente a los virus influenza A&B y / o VRS. Al igual que ocurre con las pruebas rápidas de detección de antígeno, los tipos de muestra clínica y los medios de transporte pueden variar entre las versiones exentas y no exentas de la misma prueba, y estas instrucciones del fabricante deben seguirse estrictamente para mantener el estado de exención.

Para la evaluación del rendimiento de las TAAN exentas de CLIA, los estudios más relevantes serían aquellos realizados por personal no cualificado y en un entorno POC. Sin embargo, la mayoría de los estudios para la evaluación de estos dispositivos se han realizado en laboratorios clínicos por personal cualificado y especializado.

Estudios publicados sobre Alere i influenza A&B en entorno POC, empleando como muestra el hisopado nasal directo, reflejó una sensibilidad del 99% para influenza A y 97% para influenza B, con especificidades del 98% y 100% respectivamente, en comparación con el cultivo celular. Por el contrario, cuando se ensayaron muestras de exudado faríngeo (no aprobada) de adultos, empleando la PCR como comparador, la sensibilidad fue del 76%. Es importante destacar que, en este estudio, las sensibilidades variaron entre el 50% y el 82% entre los diferentes entornos de POC por causas no aclaradas.

En otro ensayo, Alere i influenza A & B se comparó con Roche Cobas Liat, así como con una PCR de referencia. Usando como muestra clínica el exudado nasofaríngeo con medio de transporte para virus en adultos, Alere i presentó una sensibilidad del 64% y Roche Cobas Liat del 98%.

Chen *et al.* compararon Alere i influenza A&B y Xpert Xpress Flu y comunicaron sensibilidades de 97% para la influenza A y 81% para virus de la influenza B para Alere i, y 100% y 96,3%, respectivamente, para la Xpert Xpress Flu. La mitad de las muestras en este estudio fueron de niños. Nuevamente, estos estudios se realizaron en laboratorios clínicos, no en POC, y se usaron muestras con medio de transporte en lugar de hisopos nasales directos.

Se han publicado otros estudios sobre la experiencia con Roche Cobas Liat en entorno POC. En un estudio donde se incluyeron hasta doce ubicaciones diferentes y que se realizó por personal no especializado, el sistema Liat Influenza A&B / VRS alcanzó sensibilidades del 97%, 99% y 99%, respectivamente. En este caso se comparó con la prueba Prodesse ProFlu rtRT-PCR (Hologic, MA, EE. UU.). Solo el 1,8% de los resultados iniciales fueron invalidados, lo que indica la solidez de este POC.

Cepheid Xpert Xpress es una versión mejorada y más rápida de la prueba anterior de la Gripe de Cepheid Xpert. Al igual que el Roche Cobas Liat, Cepheid tiene dos opciones: Xpert Xpress Flu y Xpert Xpress Flu / VRS. Una comparativa reciente de Cepheid Xpert Xpress y Roche cobas Liat, realizada en el laboratorio y no entorno POC, mostró sensibilidades para la influenza A, B y VRS del 100%, 98% y 100%, respectivamente, para el Xpert Xpress, y 100 %, 100% y 100% para el Cobas Liat. Las especificidades fueron del 99% al 100% para ambas pruebas. El rendimiento fue mucho mayor para Cepheid Xpert en este estudio, ya que se usó un instrumento de 16 módulos, en comparación con un solo instrumento POC de Cobas Liat.

Tabla 4. Principales técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para la detección de virus influenza A y B, y/o VRS y otros virus respiratorios, exentas de CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*)

Técnica comercial	Método	Genes diana en Virus influenza / Microorganismos detectados*	Muestra clínica	Tiempo de respuesta (ensayo)
<i>Alere i influenza A & B</i>	Amplificación isotérmica	Influenza A & B (Flu A: PB2; Flu B: PA)	Exudado nasal	15 min
<i>Alere i RSV</i>	Amplificación isotérmica	VRS	Exudado nasofaríngeo	15 min
<i>Cobas Liat influenza A/B</i>	PCR a tiempo real	Influenza A & B (Flu A: M; Flu B: NSP)	Exudado nasofaríngeo	20 min
<i>Cobas Liat influenza A/B & RSV</i>	PCR a tiempo real	Influenza A & B, RSV (Flu A: M; Flu B: NSP)	Exudado nasofaríngeo	20 min
<i>Xpert Xpress Flu</i>	PCR a tiempo real	Influenza A & B (Flu A: M, PB2, PA; Flu B: M, NSP)	Exudado nasofaríngeo, aspirado nasal, lavado nasal	30 min
<i>Xpert Xpress Flu/RSV</i>	PCR a tiempo real	Influenza A & B, RSV (Flu A: M, PB2, PA; Flu B: M, NSP)	Exudado nasofaríngeo, aspirado nasal, lavado nasal	30 min
<i>BioFire FilmArray RP 2plus</i>	PCR Multiplex anidada	AdV, Cov (229E, HKU1, NL63, OC43), hMPV RV/EV humano, Influenza A (H1, H1-2009 y H3), Influenza B, (MERS-CoV), PIV 1-4, VRS, <i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001), <i>Bordetella pertussis</i> (ptxP), <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Exudado nasofaríngeo	45 min

*PB2: subunidad 2 de la ARN polimerasa; PA: subunidad de la ARN polimerasa; M: proteína M; HA: hemaglutinina; NSP: proteína no estructural; AdV adenovirus, CoV: coronavirus; hMPV: metaneumovirus humano; RV: rinovirus; EV: enterovirus; PIV: parainfluenza virus; VRS: Virus respiratorio sincitial.

Los paneles BioFire FilmArray RP2plus, que detecta 18 patógenos virales y 4 bacterias respiratorias, y el panel BioFire FilmArray Pneumonia plus están diseñados para ejecutarse en los sistemas BioFire FilmArray 2.0 y Torch, que admite de una a 12 muestras a la vez y tardan entre 45 y 60 minutos en completarse. El panel BioFire FilmArray RP2plus es la última versión del Panel Respiratorio para patógenos de tracto respiratorio superior, de forma global tiene sensibilidad de 97.3 % y especificidad de 99.3 %, mejorando notablemente frente a la versión anterior la sensibilidad frente a otros microorganismos del panel, por ejemplo para adenovirus, y con un tiempo al resultado de 45 minutos

Al igual que con otras pruebas de diagnóstico virológico, se ha demostrado que los ensayos moleculares son vulnerables a las derivas y cambios genómicos de los virus, lo que lleva a una variación en el rendimiento de un año para otro. En la temporada 2014-2015, se describió una disminución de la sensibilidad con múltiples ensayos moleculares comerciales, incluidos Cepheid GeneXpert y Cobas Liat, por una variación genética de influenza A H3N2. Esto llevó a mejoras en las pruebas, incluido el uso de dos dianas de virus de influenza A en Cepheid Xpert Xpress. Sin embargo, la amenaza del cambio genético es permanente. Por este motivo es necesario realizar una monitorización de las cepas circulantes cada temporada que será clave para la identificación rápida de las variaciones en el rendimiento de las pruebas moleculares.

Se puede concluir que la recomendación de emplear una TAAN, se haga principalmente en poblaciones de alto riesgo, como inmunodeprimidos, embarazadas o adultos con riesgo de complicaciones en quienes la sensibilidad de las pruebas de antígeno es menor. Para obtener el mayor beneficio, los resultados rápidos de estas pruebas deben vincularse directamente con las precauciones de aislamiento específicas y con los algoritmos de manejo del paciente, como iniciar la terapia antiviral, limitar el uso de antibióticos y reducir las pruebas auxiliares cuando sea necesario.

8.2. INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La meningitis y la encefalitis son enfermedades infecciosas asociadas a una importante morbilidad y mortalidad. El diagnóstico etiológico rápido y el establecimiento de un tratamiento adecuado y dirigido, es esencial para un buen manejo del paciente. Por ello se han desarrollado métodos moleculares de diagnóstico rápido capaces de detectar simultáneamente los principales agentes causales (tabla 5). Se pueden realizar en el lugar de asistencia del paciente ya que se necesita un equipo de dimensiones pequeñas y un mínimo de entrenamiento por parte del personal, aunque es conveniente que el resultado sea interpretado por personal experto.

Del panel Meningitis/Encefalitis FilmArray® se han publicado estudios de validación de la técnica en muestras de LCR recogidos en distintas poblaciones, comparándola con los métodos convencionales de tinción de Gram y cultivo. Este sistema ha mostrado entre un 84,4% y 92,0% de correlación en resultados positivos y un 99,6%-100% en los resultados negativos. Numerosos estudios han comunicado resultados positivos por el método FilmArray que no se han confirmado con cultivo. Esto es importante en los casos en que los pacientes han recibido antibioterapia antes de la realización de la punción lumbar. De igual manera se han descrito resultados falsos negativos. En cuanto al panel Allplex™ Meningitis no existen estudios de validación publicados en la literatura, pero su grado de complejidad es mayor en comparación con otros sistemas por lo que no sería adecuado para un entorno POC.

Se necesitan estudios que evalúen los efectos sobre la evolución del paciente, incluyendo mortalidad y morbilidad, estancias medias, así como análisis de coste-beneficio y efectos sobre el uso de antibióticos.

Existen en el mercado sistemas de PCR a tiempo real que detectan un sólo patógeno, como es el caso de GeneXpert Enterovirus, muy útil en la población pediátrica para descartar meningitis bacteriana, ya que las manifestaciones son similares, o el caso de Simplexa HSV 1 y 2, muy importante en todo tipo de población, niños y

adultos. Ambas técnicas cuentan con estudios de validación que reportan cifras de sensibilidad y especificidad cercanas al 100%.

Tabla 5. Principales técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para la detección rápida de microorganismos causantes de meningitis/encefalitis.

Parámetros	FilmArray (Biomerieux)	GeneXpert (Cepheid)	Simplexa HSV 1 y 2 (Focus Diagnostics)
Tecnología	PCR multiplex	PCR a tiempo real	PCR a tiempo real
Muestra clínica	LCR	LCR	LCR
Tiempo de respuesta	1 h	2,5 h	75 min
Tiempo de manipulación manual	2 min.	<2 min	<5 min
Patógenos detectados:	14	1	2
<i>H. influenzae</i>	SI		
<i>S. pneumoniae</i>	SI		
<i>L. monocytogenes</i>	SI		
<i>N. meningitidis</i>	SI		
<i>Streptococcus</i> grupo B	SI		
<i>E.coli</i> K1	SI		
Parvovirus B19			
Virus de la parotiditis			
Adenovirus			
Enterovirus	SI	SI	
Herpes simplex tipo 1	SI		SI
Herpes simplex tipo 2	SI		SI
Virus Varicela Zoster	SI		
Virus Epstein Barr			
Citomegalovirus	SI		
Herpesvirus humano 6	SI		
Herpesvirus humano 7			
Parechovirus humano	SI		
<i>C. neoformans/gattii</i>	SI		

No hay que olvidar el papel importante de las técnicas rápidas de detección de antígeno. En los últimos años se han comercializado numerosos test inmunocromatográficos para la detección cualitativa de antígeno de *S. pneumoniae* en LCR que proporcionan en un tiempo de 10-15 minutos resultados con una alta sensibilidad y especificidad, aunque variable según la casa comercial proveedora del test. En pacientes inmunodeprimidos, pacientes infectados por el VIH y en pacientes trasplantados con recuento bajo de CD4, hay que tener en cuenta el papel de *Cryptococcus neoformans*. En estos casos la detección del antígeno capsular por una técnica de látex, es útil, barata y rápida. Se puede realizar en las muestras de suero y LCR. Es una de las primeras pruebas rápidas que se comercializaron, y tiene una sensibilidad superior al 90%, pero hay que ser cautos en su interpretación. Se han descrito resultados falsos positivos debidos a la presencia de factor reumatoide, *Trychophyton beigellii*, y *Capnocytophaga canimorsus*. Se conocen falsos negativos, a veces por el fenómeno de prozona, que se puede corregir diluyendo la muestra o tratándola con pronasa. Existen en el mercado también tests de inmunocromatografía que se pueden realizar en suero y LCR, e incluso se ha comunicado que también se puede realizar en sangre directa recogida en capilar. Estos tests son muy recomendados por la OMS para el *screening* en regiones con alta prevalencia de infección criptocócica, por sus buenos resultados, bajo coste y por su facilidad en la realización.

8.3. SEPSIS

La sepsis es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, con unas tasas de mortalidad alrededor del 20-30%. La supervivencia es de un 80% si el tratamiento antibiótico adecuado y dirigido se instaura en la primera hora. Por ello se han desarrollado numerosos métodos moleculares sencillos y rápidos para la identificación del agente causal sin tener que esperar 24-72 horas al crecimiento del hemocultivo (tabla 6).

Aunque se han desarrollado plataformas capaces de acelerar el diagnóstico etiológico de la sepsis, prácticamente ninguna de ellas puede ser considerada como un verdadero POC, ya que todos estos sistemas presentan el inconveniente de necesitar el hemocultivo crecido. Solo algunos están validados para su uso en sangre directa del paciente (Magicplex Sepsis, Light Cyler SeptiFast, SepsiTst). Sin embargo, son técnicas con una duración de entre 6-8 horas, por lo que el tiempo necesario para obtener un resultado podría ser equivalente a otros procedimientos con hemocultivo crecido. Los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos son muy variables en función de la población estudiada y son necesarios más estudios de impacto clínico. El resto de técnicas necesitan como equipamiento adicional, una máquina de hemocultivos, ya que se realiza a partir del hemocultivo positivo. Verigene® System y ePlex BCID además, como requieren de la realización de una tinción de Gram para la elección del panel, precisan de personal experto y entrenado.

Del sistema QuickFISH se ha reportado en la literatura una sensibilidad/especificidad diferente, según el microorganismo, que oscila entre 95%-99%/94%-100%. Existen dos estudios de impacto clínico que demuestran una mejora en la evolución del paciente, mejor uso del antibiótico y una reducción de la estancia media.

Hay varios estudios publicados que evalúan el impacto clínico y económico del panel de sepsis FilmArray y del Verigene® System. En ambos se demuestra una disminución del tiempo de identificación del microorganismo en comparación con los métodos de identificación de rutina y una mejora en el tiempo de optimización del tratamiento, aunque no se observa impacto en la mortalidad ni en el tiempo medio de estancia. Verigene system y Filmarray han demostrado una correlación en la identificación del 99% y del 95% respectivamente.

Existen solo dos estudios de evaluación del sistema ePlex BCID en el que se muestran valores de sensibilidad/valor predictivo positivo para el panel de grampositivos del 97%/99% y para el panel de gramnegativos del 99%/96% en comparación la tinción de Gram más el cultivo.

El Sistema Unyvero se ha evaluado en un estudio multicéntrico en el que se compara con 207 hemocultivos crecidos, con unos datos de sensibilidad del 96,8% y de especificidad del 99,8% y una reducción tiempo de respuesta de 34 horas de media.

El Sistema Sepsis Flow Chip Assay, de desarrollo español, cuenta con solo dos estudios de evaluación. Para este sistema se ha reportado una sensibilidad del 93,3% y una especificidad del 100%. En comparación con otros sistemas como el Verigene system y el Filmarray, se han obtenido resultados similares de correlación con el hemocultivo.

Tabla 6. Principales sistemas de diagnóstico rápido de bacteriemias.

Parámetros	QuickFISH (AdvanDX)	FilmArray (Biomérieux) †	Verigene® System (Luminex Nanosphere)	ePlex BCID (Gen Mark DX)	Unyvero™ (Curetis)	Sepsis Flow Chip Assay (Master diagnostica)	Magicplex Sepsis (SeeGene)
Tecnología	FISH	PCR multiplex	PCR + Microarray	PCR + Microarray	PCR + Microarray	PCR + Microarray	Endpoint y PCR a tiempo real
Muestra clínica	Hemocultivo positivo	Hemocultivo positivo	Hemocultivo positivo	Hemocultivo positivo	Hemocultivo positivo	Hemocultivo positivo	Sangre directa
Tiempo de respuesta	30 min	1 h	2,5 h	1,5 h	4 h	3h	6 h
Tiempo manipulación manual	<5 min	<2 min	10 min	< 2 min	< 2 min	No reportado	No reportado
Patógenos detectados*:	10 patógenos simultáneamente: GN:3 GP:4 3 <i>Candida</i> spp.	24 patógenos simultáneamente: GN: 11 GP: 8 5 <i>Candida</i> spp. <i>mecA, vanA/B, KPC</i>	2 paneles: 1) GN:9 + CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA, VIM 2) GP:13 + <i>mecA, vanA/B</i>	3 paneles: 1)GN:21+ CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA, VIM 2)GP:20 + <i>mecA/C, vanA/B</i> 3)16 Hongos	35 patógenos: GN: 15 GP: 11 8 Hongos, <i>M. tuberculosis</i> 16 genes de resistencia	18 patógenos: GN: 10 GP: 7 <i>C. albicans</i> 20 genes de resistencia	91 patógenos: GN: 12 GP: 73 + <i>mecA, vanA/B</i> 6 Hongos
Ventajas/desventajas	- Más rápido y menor coste - No necesita realización tinción de Gram - Detecta menos patógenos - Instrumental complejo - No detecta genes de resistencia	-No requiere de la realización de Tinción de gram -Equipamiento pequeño - No detecta los genes de resistencia más importantes de nuestro entorno	- Detecta principales mecanismos de resistencia - Se necesita realizar tinción de Gram para elección del panel	- Detecta <i>C. gatii, C. neoformans, Fusarium y Rhodotorula</i> - Detecta los principales mecanismos de resistencia - Se necesita realizar tinción de Gram para elección del panel	- Detecta un gran número de patógenos incluyendo <i>M.tuberculosis</i> - Detecta los principales mecanismos de resistencia - No requiere de la realización de tinción de Gram	- Detecta todos los tipos de carbapenemas de interés clínico de nuestro entorno - No requiere de la realización de tinción de Gram	-No requiere cultivo - Detecta el mayor número de patógenos -No detecta mecanismos de resistencia de GN -Poca experiencia y baja sensibilidad (47%) y especificidad (66%)

*GN: bacteria gramnegativa; GP: bacteria grampositiva

† Pendiente de comercializarse el panel BioFire FilmArray BCID2 para la detección de 15 GN, 11 GP, 7 *Candida* spp.. y genes de resistencia: CTX-M, IMP, KPC, *mcr-1, mecA/C* y MREJ, NDM, tipo OXA 48, VIM, *vanA/B*.

8.4. INFECCIONES DEL APARATO DIGESTIVO

La gastroenteritis infecciosa sigue siendo un problema significativo en países industrializados y una razón muy frecuente de consulta médica en todos los grupos de edad. Se estima que se producen 2 billones de casos al año en todo el mundo y 1,9 millones de muertes en niños menores de 5 años, la mayoría en países en desarrollo. Recientemente se han desarrollado técnicas moleculares de fácil manejo (tabla 7), capaces de

dar un diagnóstico rápido y preciso del patógeno causante, información necesaria para la toma de decisiones terapéuticas para conseguir mejores resultados para el paciente y una reducción de costes sanitarios.

Tabla 7. Principales técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para la detección molecular de enteropatógenos.

	BioFire FilmArray GI	Verigene EP (Luminex company)	Novodiag GE+ (Mobidiag)	BD MAX System (Becton Dickinson)	GeneXpert (Cepheid)
Tecnología	PCR multiplex	RT-PCR y PCR	PCR + Microarray	PCR multiplex	PCR a tiempo real
Muestra clínica	Heces	Heces	Heces	Heces	Heces
Tiempo de respuesta	1 h	< 2 h	75 min	3-4 h	45 min-1h
Tiempo manipulación manual	2 min	< 5 min	<2 min	<2 min	<2 min
Patógenos detectados:	22 enteropatógenos (bacterias, virus y parásitos). Toxina A y B de <i>C. difficile</i> y la cepa epidémica BI/NAP1/027 hipervirulenta	9 enteropatógenos: (Bacterias y virus)	-13 bacterias enteropatógenas - Novodiag <i>C. difficile</i> toxigénico + genes de toxina B	3 paneles: 1) Bacterias: 10 especies 2) Virus: 4 3) Parásitos: 4 especies	2 cartuchos - <i>C. difficile</i> toxigénico + genes de Toxina A y B - Norovirus

En los últimos años se han desarrollado numerosos tests rápidos de detección cualitativa de antígeno por inmunocromatografía para los principales enteropatógenos, tanto bacterias, como parásitos y virus. Se han publicado estudios de validación en comparación con métodos convencionales, reportándose una sensibilidad y especificidad superior, variable según la casa comercial de los diferentes tests. Son recomendables como POC por su bajo coste, por su rapidez y por la facilidad para la realización e interpretación de resultados. Sin embargo, su empleo solo permite un diagnóstico preliminar que debe complementarse con los estudios microbiológicos de referencia. La detección de antígenos virales (rotavirus, adenovirus, norovirus, sapovirus o astrovirus) en casos de diarrea aguda podría resultar útil como cribado para descartar un cuadro de origen bacteriano, especialmente en la población pediátrica. En cualquier caso, son necesarios más estudios que avalen su eficacia.

Los paneles sindrómicos de Verigene EP y FilmArray son los que cuentan con más estudios observacionales y multicéntricos de evaluación donde se demuestra una positividad superior frente a los métodos convencionales de cultivo y detección de antígeno y a los métodos de examen en fresco, que son dependientes del entrenamiento del observador. Se han reportado resultados de positividad de un 54% frente a un 18% del cultivo.

Clostridioides difficile es la causa más común de infección gastrointestinal en pacientes hospitalizados. Los distintos algoritmos diagnósticos incorporan la detección de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) como método de cribado, de forma que la detección de toxina irá precedida por un resultado positivo para GDH. Existen pruebas POC en formato inmunocromatográfico para la detección de GDH con valores de sensibilidad y especificidad mayores al 90%. En el caso de las pruebas de flujo lateral para

la detección de toxinas, aunque con buena especificidad, la sensibilidad es baja (40-60%), por lo que un resultado negativo deberá ser complementado con alguna prueba de detección de ácidos nucleicos. Los sistemas en formato POCmol (Cobas Liat, GenePOC, GeneXpert, Simplexa, Verigene, BD MAX) cuentan con pruebas TAAN aprobadas por FDA para la detección de la toxina de *C. difficile* con valores de sensibilidad alrededor del 90% y una especificidad cercana al 100%.

Hay que valorar el coste-beneficio a la hora de introducir estos métodos moleculares ya que existen datos en la literatura que evalúan el impacto clínico y económico y que concluyen que su uso supone un incremento de costes importante para el laboratorio, y sólo encuentran una reducción de costes por la disminución de días en los que el paciente está ingresado con precauciones de contacto.

8.5. INFECCIONES TROPICALES Y RELACIONADAS CON VIAJES

La fiebre es un signo inespecífico pero frecuente en pacientes nativos, expatriados y viajeros a regiones tropicales que puede indicar infección causada por un patógeno que se encuentra específicamente en estos países. Por la gravedad y la mortalidad asociada a algunos de ellos, como el virus del Ébola y la malaria, la OMS recomienda disponer de medios de diagnóstico rápido para establecer una terapia dirigida lo antes posible.

Para los casos de sospecha de malaria, los test rápidos de detección de antígeno por inmunocromatografía son de elección para un *screening* rápido. Existen en el mercado muchas marcas comerciales que detectan las diferentes especies de *Plasmodium*, todas con una alta sensibilidad y especificidad para la detección de *P. falciparum*. Dadas las sensibilidades significativamente más bajas para las especies diferentes a *P. falciparum* y para la detección de niveles bajos de parasitemia (todas las especies), los resultados deben confirmarse con otras pruebas de laboratorio, por ejemplo, examen de sangre al microscopio. En este momento, la prueba de malaria BinaxNOW (Alere, Waltham, MA) es la única aprobada por la FDA. Detecta la HRP II específica de *P. falciparum* y un antígeno pan-malaria no especificado común a *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*. Según la literatura la sensibilidad global de esta prueba para *P. falciparum* es del 90 % aunque puede disminuir a un 50% en parasitemias bajas. En un estudio se demuestran variaciones de sensibilidad en función del entorno en que se realice la prueba, siendo del 88% si se realiza en el punto de atención al paciente y del 95% si se realiza en el laboratorio. También se han descrito problemas de sensibilidad del antígeno pan-malarico para la detección de *P. ovale*. Se están desarrollando prometedores sistemas de diagnóstico molecular de un solo paso, como el Q-Poc (QuantuMDX) basados en PCR y análisis por microarray que proporcionará resultados en 10-20 minutos y el Aquila system (Aquila diagnostics) basado en PCR a tiempo real con resultados en menos de 1 hora.

Para el diagnóstico del virus del virus Ébola Zaire, la OMS ha aprobado una prueba para el diagnóstico rápido por inmunocromatografía, que permite detectar la proteína VP40 del virus en un tiempo de 15 minutos en sangre venosa o capilar, suero o plasma. La sencillez de la prueba no debe hacer olvidar las precauciones de seguridad biológica. El kit evaluado con la cepa Makona de virus Ébola Zaire y comparado con una técnica de RT-PCR, ha mostrado una sensibilidad de 91,8% y una especificidad del 84,6%. Se recomienda que una vez obtenido el resultado se confirme si es posible con una prueba de PCR estándar. En cuanto al diagnóstico molecular, está comercializado el panel Xpert Ébola de GeneXpert (Cepheid), certificada por CE-IVD, que facilita los resultados en 45 minutos realizados en suero o sangre total, con un 100% de correlación con el ARN viral obtenido de muestras clínicas, según el fabricante, y el Alere p Platform (Abbot), técnica certificada por CE-IVD. También está comercializado el sistema FilmArray BioThreat-E para la detección de virus Ébola Zaire.

En caso de sospecha de virus Dengue, existen numerosos tests rápidos de detección cualitativa del antígeno NS1 por inmunocromatografía realizado en suero y plasma, (Biorad, Alere, Standard Diagnostic, etc) con una sensibilidad y especificidad variable según la casa comercial, de 63%-98% y 89-100% respectivamente, y tests rápidos para la detección de anticuerpos IgM e IgG frente la proteína NS1, con

una sensibilidad que varía del 30% al 96% y especificidad del 86% al 92%. Existen sistemas moleculares prometedores en desarrollo, como el Firefly Dx (Positive ID Corporation) para el diagnóstico simultáneo de Virus Ebola, Dengue, Chikungunya y virus Nipah, con resultados en menos de 20 minutos y el Cirrus DX (Tetracore, Inc) que está desarrollando una PCR multiplex para el diagnóstico simultáneo del Virus Zika, Dengue y Chikungunya.

8.6. VIH, HEPATITIS E INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (ITS)

La OMS estima que, anualmente, unos 357 millones de personas contraen alguna de las cuatro principales ITS: *Chlamydia trachomatis* (CT), gonorrea (NG), sífilis (TP) o tricomoniasis (TV). Las ITS tienen efectos directos en la salud sexual y reproductiva y figuran entre las cinco categorías principales por las que los adultos solicitan atención médica. En muchas ocasiones cursan de forma asintomática, sólo pudiendo ser detectadas mediante cribado, lo que aumenta el riesgo de complicaciones a largo plazo y facilita su diseminación. Por otro lado, estas infecciones se tratan de forma sindrómica en espera de los resultados de laboratorio, por esta razón la disponibilidad de pruebas rápidas y/o POC es fundamental para instaurar un tratamiento adecuado y para la prevención de la transmisión. La tinción de Gram o la microscopía de campo oscuro, son pruebas rápidas, económicas y fáciles de realizar, aunque necesitan equipamiento y dependen de la experiencia del observador. En los últimos años han surgido multitud de pruebas POC y plataformas capaces de proporcionar resultados en menos de 2 horas, aunque su rendimiento es bastante variable. En cualquier caso, es necesario evaluar no solo la sensibilidad o el coste de estas técnicas sino el impacto en el tratamiento inmediato del paciente ya que en muchas ocasiones este no regresa a la consulta a por los resultados. La OMS establece unos criterios que deben cumplir las pruebas POC destinadas al diagnóstico de las ITS (ASSURED):

- √ Económico
- √ Sensible
- √ Específico
- √ Uso sencillo
- √ Rápido y robusto (resultados en <30 minutos y almacenable a temperatura ambiente)
- √ Sin necesidad de equipamiento
- √ Disponible para usuario final

Existen pruebas POC de flujo lateral para la detección de anticuerpos frente a *Treponema pallidum* (Alere Determine™ Syphilis TP, the SD BIOLINE Syphilis 3.0 o Chembio DPP® Syphilis Screen & Confirm Assay). Estas pruebas emplean sangre capilar y presentan valores de sensibilidad entre 86,3% y 100%, y de especificidad superiores al 95%. Muchos de estos ensayos emplean anticuerpos treponémicos. Hay que tener en cuenta que estos anticuerpos pueden persistir de por vida, por lo que especialmente en poblaciones con alta prevalencia es recomendable un test confirmatorio o utilizar pruebas que detecten anticuerpos tanto treponémicos como no treponémicos (ver tabla 8).

Tabla 8. Pruebas POC para diagnóstico rápido de sífilis.

PRUEBA	Tipo	MUESTRAS	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Alere Determine Syphilis TP	Treponémica	Plasma, suero, sangre completa	59,6-100	95,7-100
Omega VisiTect Syphilis	Treponémica	Plasma, suero, sangre completa	72,7-98,2	98,1-100
SD Bioline Syphilis 3.0	Treponémica	Plasma, suero, sangre completa	85,7-100	95,5-99,4
DDP Syphilis	Treponémica y no treponémica	Plasma, suero, sangre completa	90,1-98,2 (treponémicas) 80,6-98,2 (no treponémicas)	91,2-98,0 (treponémicas) 89,4 (no treponémicas)
SD Bioline HIV/Syphilis Duo	Treponémica y anticuerpos frente a VIH	Plasma, suero, sangre completa	97,9-99,0 (VIH) 93,0-99,6 (sífilis)	99,0-100 (VIH) 99,1-100 (sífilis)
DPP HIV/Syphilis	Treponémica y anticuerpos frente a VIH	Plasma, suero, sangre completa	98,9 (VIH) 95,3 (sífilis)	97,9-99,6 (VIH) 97,0-99,6 (sífilis)
Múltiple Rapid TP/HIV	Treponémica y anticuerpos frente a VIH	Plasma, suero, sangre completa	97,9 (VIH) 94,1 (sífilis)	94,2-99,5 (VIH) 94,2-99,1 (sífilis)

Son frecuentes las coinfecciones de sífilis y VIH, por lo que se han desarrollado pruebas duales capaces de detectar anticuerpos frente a ambos de forma simultánea (Alere SD Bioline HIV/Syphilis Duo Test). La sensibilidad de estas pruebas oscila entre el 90% y el 100% para el VIH, y entre 80-100% para la sífilis, con una especificidad mayor del 95% para el VIH y del 90% para la sífilis. La prueba OraQuick Advance rapid HIV-1/2 es un ensayo de flujo lateral para detectar anticuerpos contra el VIH en muestras orales, lo que aumenta la aceptación al tratarse de muestras no invasivas; por otro lado, la posibilidad de ser realizado por el propio paciente facilitaría la realización de la prueba por individuos más reticentes a acceder al sistema sanitario. Sin embargo, la sensibilidad en muestras orales es inferior que con muestras de sangre. Finalmente, las pruebas para detectar anticuerpos contra el VIH pueden no identificar una infección temprana, periodo durante el cual el riesgo de transmisión es mucho mayor. Para mejorar la sensibilidad en fases tempranas de la infección algunos ensayos incorporan la detección del antígeno p24 (Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo, Bio-Rad HIV Combo Ag/Ab EIA) (ver tabla 9). En cualquiera de los casos un resultado positivo para la prueba rápida de VIH deberá ser confirmado en el laboratorio por las técnicas de referencia.

Tabla 9. Pruebas de flujo lateral para diagnóstico rápido del VIH (en infección establecida).

PRUEBA	MUESTRAS	TIEMPO (minutos)	S (%)*	E (%)*
Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo	Plasma, suero, sangre completa	20	99,9	98,9-100
Uni-Gold Recombinogen HIV	Plasma, suero, sangre completa	10	100	99,8
Clearview HIV 1/2 STAT PAK	Plasma, suero, sangre completa	15	99,7	99,9
DPP HIV-1/2	Plasma, suero, sangre completa y saliva	15	99,9	99,9
OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2	Plasma, sangre completa y saliva	20	99,6	99,9
SURE CHECK HIV 1/2	Plasma, suero, sangre completa	15	99,7	99,9

*S: sensibilidad; E: especificidad

Al igual que en el caso del VIH, la disponibilidad de pruebas POC en el caso de hepatitis víricas facilita el acceso al diagnóstico y por tanto a un tratamiento temprano y eficaz, contribuyendo de esta manera a una

reducción del impacto de estas infecciones. Esta estrategia de diagnóstico es una de las recomendaciones que la Organización Mundial de la Salud incluye en su objetivo de erradicación de las hepatitis virales. La prueba OraQuick® HCV rapid antibody test permite la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C tanto en muestras de saliva como de sangre capilar, con sensibilidad superior al 90% y especificidad cercana al 100%. Existen formatos capaces de detectar de forma conjunta anticuerpos frente a VIH, VHC y/o sífilis (Medmira, Chembio) con valores similares de especificidad y sensibilidad, aunque son necesarios más estudios. En cuanto a pruebas rápidas TAAN tanto para VHC como VIH existen comercializados sendas pruebas Xpert HCV Viral Load y Xpert HIV-1 Viral Load. La principal ventaja de estas últimas es la capacidad de detección cuantitativa del genoma vírico. Ambos sistemas tienen un amplio rango lineal con un límite de cuantificación de 40 copias/mL para VIH, y un límite de detección para VHC de 4,0 UI/mL en muestras de plasma y 6,1 UI/mL en muestras de suero. En casos de lugares con dificultad para instalar determinada instrumentación o grupos de población de difícil acceso o con reticencia a la realización de las pruebas, una buena opción es el envío a los laboratorios de referencia de muestras de sangre seca en Dried Blood Spots (DBS). Existen numerosos estudios en la literatura que avalan su utilización tanto para VIH como VHC, con buena correlación con los resultados obtenidos en distintos sistemas comerciales.

En el caso de las infecciones por CT, NG y TV los ensayos de flujo lateral presentan valores de sensibilidad muy bajos (<50%) lo que no permite descartar la infección. Existen pruebas rápidas de TAAN basadas en PCR en tiempo real (GeneXpert NG/CT, BD MAX System) con valores de sensibilidad y especificidad superiores al 90-95%, aunque requieren equipamiento y cierta complejidad en su realización. Están validadas para muestras genitales, pero requieren validación en muestras extragenitales (rectal o faríngeo). En estas localizaciones un resultado positivo para NG debería ser confirmado por una segunda técnica que detecte una diana diferente. Investigadores de la Universidad Johns Hopkins han desarrollado un sistema de cartuchos con capacidad de acoplarse por tecnología Bluetooth a un teléfono móvil (MobiNAAT), este sistema utiliza tecnología LAMP, proporciona resultados en menos de una hora y los primeros ensayos muestran una concordancia del 100% con los métodos de referencia. Con el objetivo de mejorar la sensibilidad de las técnicas de flujo lateral se ha desarrollado el sistema Honesti (Phase Diagnostics, US), para la detección de CT, que incorpora un sistema de enriquecimiento previo al paso de detección. Estos sistemas son algunos ejemplos de pruebas de autodiagnóstico que al poder ser realizados por el propio paciente, tienen el potencial de facilitar la adherencia al cribado especialmente en poblaciones de riesgo.

9. IMPLEMENTACIÓN DE PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE

9.1. CONSIDERACIONES EN FUNCIÓN DEL NIVEL DE IMPLEMENTACIÓN

La facilidad de realización de estas pruebas diagnósticas, permite su utilización en diferentes ámbitos asistenciales. No obstante, existen diferencias en función del área de implantación, microorganismos que se van a detectar, tecnología utilizada, objetivos planteados y necesidades materiales.

9.1.1. Pruebas realizadas por el propio paciente

La realización “en casa” de determinadas pruebas diagnósticas, en un entorno más privado, puede proporcionar una mayor satisfacción al paciente. Estas pruebas podrían ir dirigidas a la detección de los agentes más prevalentes a nivel comunitario: faringitis bacterianas, infecciones de transmisión sexual, infección por el VIH, infecciones urinarias, determinadas infecciones respiratorias, etc. Las tecnologías utilizadas deberán ser muy sencillas, con mínimos tiempos de manipulación y de respuesta y máxima sensibilidad. Actualmente el modelo de las pruebas de embarazo mediante inmunocromatografía cumple los requisitos de sencillez y rapidez, aunque con algunas limitaciones en cuanto a sensibilidad. El objetivo de la realización de estas pruebas por el propio paciente, sería la de un primer despistaje con la posibilidad de una rápida consulta a personal sanitario.

Existen ya sistemas comercializados que permiten la realización del test de detección de anticuerpos frente al VIH por el propio paciente. El catálogo de posibles pruebas crece día a día y serán accesibles en los próximos años.

La ejecución de dichos tests “en casa”, requiere que estos presenten instrucciones claras y muy sencillas sobre la recogida de las muestras, realización de las pruebas e interpretación de los resultados. Algunos expertos recomiendan el empleo de códigos QR que enlacen con vídeos tutoriales con las pertinentes explicaciones en múltiples idiomas.

9.1.2. Pruebas realizadas en Atención Primaria

Desde hace varios años es una realidad la realización de estas pruebas en Atención Primaria para el diagnóstico de las faringitis producidas por *Streptococcus* del grupo A. Ya existen también múltiples iniciativas para incorporar el diagnóstico de las infecciones respiratorias víricas en centros de Atención Primaria con el potencial impacto que puede suponer en la mejora de la prescripción de antibióticos. La introducción de estos POC, deberá ir orientada a la epidemiología de cada ámbito geográfico, contar con la asesoría del personal especializado del hospital de referencia e incorporarse a algoritmos diagnósticos que permitan completar los estudios o confirmar resultados dudosos en los laboratorios de Microbiología. De igual forma y para garantizar la correcta utilización de dichas pruebas, es importante implementar un sistema de capacitación y control de calidad organizado desde el propio servicio de Microbiología de referencia, que certifique el correcto uso, la correcta conservación de los reactivos, la ausencia de contaminaciones y/o inhibiciones y la relevancia de los resultados. De igual manera estas consideraciones afectan a todas aquellas unidades, centros u organizaciones en los que se proporcione atención sanitaria temprana, entre los que podrían incluirse centros de ITS, centros de tratamiento de adicciones, prisiones, ONGs, unidades móviles de cribado o centros de inmigrantes entre otros.

9.1.3. Pruebas realizadas a nivel hospitalario

A nivel hospitalario, conviene distinguir dos escenarios:

1) Realización de los POC fuera del laboratorio de Microbiología en servicios “diana”.

En algunas ocasiones, determinadas circunstancias del propio hospital pueden favorecer la utilización de los POC fuera del laboratorio: ausencia de Microbiología durante las 24 horas, organización arquitectónica del centro (pabellones u hospitales sin laboratorio dependientes de un tercero) cuestiones logísticas (dificultad para la llegada de las muestras al laboratorio). Todas estas situaciones, que potencialmente alargan innecesariamente los tiempos de respuesta hasta obtener el diagnóstico, pueden solventarse con la incorporación *in situ* de los POC. Para ello, es necesario la identificación de los puntos del hospital de mayor necesidad (riesgo de los pacientes, lejanía geográfica, etc.) y ofrecer por parte del Servicio de Microbiología la mayor cobertura posible para la realización de dichos tests en las mejores condiciones: formación, información, resolución de dudas, test complementarios, etc.

2) Realización de los POC en el laboratorio de Microbiología

Los servicios de Microbiología llevan incorporando pruebas de diagnóstico rápido desde hace muchos años. No obstante, es importante que junto a la realización de los mismos se garantice que los tiempos de respuesta desde que la muestra se recibe en el laboratorio hasta que se emite el resultado, estén ajustados a los tiempos de realización de las pruebas. Es también muy importante la creación de circuitos de alta resolución dentro del laboratorio para priorizar aquellas muestras de aquellos pacientes que más se van a beneficiar de las pruebas rápidas. Por último, el laboratorio debe asegurarse de que la información llegue a los médicos responsables del paciente en tiempo y en contenido para que estos puedan tomar decisiones clínicas relevantes.

9.2. ASPECTOS ORGANIZATIVOS

9.2.1. Necesidades de instrumentación y soportes informáticos

Uno de los problemas que plantea la utilización generalizada de los sistemas POC fuera de los laboratorios de Microbiología es la posible fragmentación de la información tanto en las pruebas realizadas en casa por los pacientes como en los centros de Atención Primaria. Esta situación podría generar graves inconvenientes para la atención de los pacientes por la dispersión o ausencia de datos esenciales clínicos centralizados, pero también podría limitar la información epidemiológica con respecto a determinadas enfermedades infecciosas lo que es esencial en el ámbito de la Salud Pública. Las tecnologías de la información pueden solucionar estos problemas. Algunos expertos prevén la utilización de soportes informáticos en formato de nube de registros clínicos que incorporen toda la información clínica relevante de cada individuo. A dichos registros podrían acceder no solo los profesionales sanitarios, sino también el propio paciente. Además, el registro de resultados de muchas pruebas basadas en inmunocromatografía, podría realizarse mediante lectores digitales incorporados a los teléfonos inteligentes de uso personal, que facilitarían la lectura y el envío de resultados a una base de datos central. La generalización de estas redes de información acopladas a los POC junto con sistemas sofisticados de posicionamiento geográfico tipo GPS, podrían ser esenciales en un futuro en la detección rápida de brotes.

9.2.2. Formación y recursos humanos

Es evidente que la utilización generalizada de los POC en los centros sanitarios extrahospitalarios conlleva una reorganización en la práctica clínica, en los flujos de trabajo y en los modelos de asistencia en el entorno de la medicina primaria. Es imprescindible una buena organización logística para crear consultas de alta resolución en las que los pacientes se vayan con el diagnóstico y el tratamiento, siendo innecesaria la visita posterior para recoger resultados. Esto podría crear la necesidad de personal sanitario responsable de la realización de dichos test en los centros de salud, fuera de los servicios de Microbiología. Dicho personal deberá estar tutelado y formado por los especialistas del laboratorio de referencia.

9.2.3. Gestión y validación de resultados

Con el incremento del uso de estos sistemas hay que considerar tres momentos importantes en la realización de un test diagnóstico POC:

- 1) La indicación del test. Es necesaria la elaboración de guías clínicas que aconsejen cuando es pertinente realizar un diagnóstico mediante POC o solicitar pruebas de laboratorio más convencionales. Hay que asegurarse de que los tests realizados tengan un impacto positivo en el manejo del paciente.
- 2) La lectura del test. Muchas pruebas rápidas, tienen lecturas fáciles de interpretar que sin embargo requieren una mínima formación. Las técnicas de inmunocromatografía tipo *lateral flow* generalmente incorporan controles negativos y positivos que el paciente o el personal sanitario deben conocer y valorar. Las pruebas rápidas moleculares de amplificación genómica, también deben llevar controles que alerten ante posibles inhibiciones de las reacciones que proporcionen falsos resultados negativos o ante posibles contaminaciones de los reactivos que por el contrario generen falsos resultados positivos.
- 3) La validación del resultado. Las pruebas POC en Microbiología, son diferentes a otras pruebas como por ejemplo las de embarazo. Hay que tener en cuenta que no siempre la detección de un patógeno es sinónimo de enfermedad. Es necesario conocer en qué casos puede haber portadores asintomáticos de potenciales patógenos, contaminaciones de la técnica, disminución de sensibilidad del test por tratamientos antibióticos, o cambios epidemiológicos del microorganismo estudiado que reduzcan considerablemente la rentabilidad de la prueba. Es necesario por tanto una validación facultativa en muchas ocasiones. Actualmente, las tecnologías de la información permiten la realización de las pruebas cerca de los pacientes y la posterior transmisión y validación de los resultados por un profesional experto en un laboratorio de Microbiología de referencia.

Finalmente, la generalización del uso de los sistemas POC deberán estar liderados por los microbiólogos teniendo en cuenta tres elementos:

1) Implementación:

- Creación de algoritmos *ad-hoc* que incorporen dichos sistemas como parte de un diagnóstico más integral.
- Modificación de los flujos asistenciales para facilitar las consultas de alta resolución.
- Sistema de información que conecte con todos los equipos periféricos para centralizar los registros clínicos de los pacientes.
- Uso de estos equipos como parte de los sistemas de vigilancia epidemiológica de Salud Pública.

2) Formación y asesoramiento:

- Asesoría y comunicación periódica y fluida de los expertos microbiólogos sobre la utilización e interpretación de los tests con el personal sanitario menos especializado o con los propios pacientes.
- Establecimiento de sistemas de capacitación para la realización de determinadas pruebas.

3) Evaluación:

- Realización imperativa de estudios de coste-efectividad con la incorporación de cada técnica rápida de diagnóstico.
- Controles de calidad periódicos que garanticen la correcta utilización de los tests y su correcto almacenamiento.

9.3. EVALUACION CONTINUA Y CONTROL DE CALIDAD

Actualmente el mercado del POC crece de forma exponencial, tanto en el número de microorganismos que se pueden detectar y el número de pruebas existentes para un mismo patógeno, como en las distintas tecnologías aplicadas al diagnóstico rápido. Independientemente de la certificación que habilita la comercialización de cada una de estas pruebas, el laboratorio de Microbiología no solo debe ser el garante de seleccionar las pruebas a incorporar, sino también de establecer procedimientos que garanticen el más alto grado de seguridad y eficacia, de evaluar el impacto positivo de la implementación de estas pruebas y de realizar la actualización y mejora continua en función de las necesidades y de los avances tecnológicos. La incorporación de pruebas POC no solo incrementa el número de equipos, sino también el número de personas que intervienen en el proceso diagnóstico, especialmente si estas pruebas se realizan de manera descentralizada. Esto supone un verdadero reto en cuanto a la vigilancia y aseguramiento de la calidad que debe ser asumido de forma centralizada en el propio laboratorio de Microbiología. Las pruebas POC y POCmol incorporan sus propios controles internos que dan validez al ensayo, y los resultados de estos controles deben quedar registrados para su supervisión por el microbiólogo. El tipo y el número de controles serán definidos por el laboratorio de Microbiología e irán en concordancia tanto con la complejidad de la técnica como con la relevancia que tenga el resultado en la toma de decisiones clínicas. Es fundamental la participación en programas de control de calidad externos y programas de intercomparación. Muchas de las pruebas rápidas y POC empleadas para diagnóstico microbiológico solo detectan algunos de los patógenos que pueden ser causantes de un cuadro infeccioso, y en otras ocasiones los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba no son lo suficientemente robustos como para garantizar un resultado definitivo. Por esta razón, el empleo de estas pruebas se debe integrar en procedimientos o algoritmos diagnósticos que, junto con las técnicas más complejas utilizadas en el laboratorio de Microbiología, proporcionen la información más completa y fiable para el manejo del paciente. La información de los resultados generados por el uso de POC se debe comparar con la obtenida con las técnicas de rutina de forma que exista una evaluación continua de la utilidad de estas pruebas. En el caso de pruebas POC o POCmol con la suficiente robustez como para proporcionar resultados a priori definitivos, deben establecerse controles periódicos comparando estos con los resultados de las técnicas de referencia. Es importante tener en cuenta que en ocasiones la sensibilidad de las nuevas tecnologías es superior a las pruebas de referencia. En estos casos es recomendable comprobar los resultados discrepantes mediante una

tercera prueba o en un centro de referencia. Toda esta información quedará centralizada y será revisada con el objetivo de establecer las medidas correctoras que permitan corregir las desviaciones observadas.

En el caso de pruebas externalizadas se aumenta el número de personas no cualificadas y localizaciones que intervienen en el proceso, lo que incrementa el riesgo de errores de forma exponencial. Es por tanto indispensable concienciar a todo el personal implicado de la importancia de los controles y validaciones rutinarias, informarles de los errores y desviaciones encontradas y mantener un programa de formación y evaluación continua de los recursos humanos de forma que se asegure su competencia.

9.4. CENTRALIZACIÓN. EL LABORATORIO *POINT OF CARE* DE MICROBIOLOGÍA

La diversidad de pruebas y modelos organizativos y de gestión de los distintos servicios sanitarios hace difícil establecer un modelo óptimo de implementación del POC. Cada laboratorio de Microbiología deberá establecer el modelo que considere más adecuado atendiendo a factores como su estructura y organización, servicios clínicos y área de influencia o disponibilidad de recursos humanos y materiales. Un aspecto fundamental a tener en cuenta es el conocimiento de la prevalencia y epidemiología de los distintos microorganismos, teniendo en cuenta las variaciones geográficas y poblacionales que son inherentes a estos. La integración de toda esta información es clave no solo para garantizar la eficacia del proceso, sino que facilitará la vigilancia epidemiológica y la evaluación y actualización continua.

Las pruebas POC en sí mismas están destinadas a ser utilizadas fuera del laboratorio, por lo que parece evidente que esta descentralización sin una supervisión y unos procedimientos bien definidos iría en contra de un uso eficiente, poniendo en riesgo la seguridad del paciente. Como se ha descrito anteriormente, la implementación de pruebas POC descentralizadas conlleva un esfuerzo de inversión tanto en recursos humanos como materiales. Es necesario valorar y evaluar si esta descentralización supone un verdadero beneficio para el paciente, en equilibrio con un uso eficiente de los recursos. Por ejemplo, la centralización en el laboratorio de Microbiología puede dar respuesta a las necesidades de diferentes servicios clínicos sin necesidad de instalar múltiples equipos en distintas localizaciones, reduciendo de esta manera los costes tanto materiales como en tiempo y recursos humanos. Por otro lado, hay que tener en cuenta que las pruebas POC en Microbiología solo cubren una parte de todos los patógenos, habitualmente los más prevalentes, que pueden ser causantes de un determinado cuadro infeccioso. De la misma manera, tal como se ha indicado en los apartados anteriores, muchas de estas pruebas no presentan valores adecuados de sensibilidad y especificidad que permitan dar un diagnóstico definitivo sin necesidad de pruebas complementarias. Por último, es imprescindible determinar los perfiles de sensibilidad/resistencia a los tratamientos y la vigilancia epidemiológica. Por lo tanto, en el caso del diagnóstico microbiológico, las pruebas POC o POCmol, resultan muy útiles para proporcionar un resultado preliminar rápido, pero en la mayoría de los casos deben ser complementadas por los métodos de referencia.

Teniendo en cuenta estas premisas, un modelo de implementación de diagnóstico POC sería la centralización de estas pruebas en los laboratorios de Microbiología. El objetivo es mejorar la capacidad de “atención continuada” realizada a través del personal de Microbiología desde tres puntos de vista principales:

- 1) Mejorar el diagnóstico de infección aguda:
 - Participar en el proceso de decisión clínica con la optimización del tratamiento.
 - Instauración de medidas preventivas/profilácticas. Control epidemiológico tanto a nivel hospitalario como comunitario (brotes, pacientes institucionalizados, etc.).
 - Gestión de pacientes/camas, especialmente en periodos epidémicos.
- 2) Aumentar la cobertura diagnóstica en fines de semana, festivos y periodos epidémicos.
- 3) Cribado inicial para optimizar el uso posterior de procedimientos habituales de diagnóstico microbiológico.

Esta centralización presenta las siguientes ventajas:

- 1) Menor inversión económica, aprovechando la infraestructura del propio laboratorio.
- 2) Selección de las pruebas más adecuadas y elaboración de algoritmos diagnósticos.
- 3) Disponibilidad de distintas pruebas, con diferentes indicaciones, para un mismo agente y/o síndrome infeccioso.
- 4) Garantizar el manejo adecuado de las muestras (procesamiento, estudios complementarios y conservación).
- 5) Garantizar las condiciones de bioseguridad adecuadas.

En aquellos centros o servicios sanitarios que no cuenten con Servicio o Unidad de Microbiología, o que este se encuentre externalizado en un laboratorio centralizado, podría resultar conveniente la realización de pruebas rápidas o POC en estos centros periféricos, con objeto de optimizar los tiempos de respuesta y reducir el impacto del retraso debido al transporte de las muestras hasta el laboratorio central. En este caso, la implantación, supervisión y validación deberá estar a cargo de los especialistas en Microbiología del laboratorio de referencia. Independientemente del formato de implementación, la información y los resultados generados deberán volcarse al SIL y a la historia clínica del paciente una vez validados.

10. PERSPECTIVAS FUTURAS

Sin lugar a dudas el campo del POC seguirá creciendo en los próximos años. El desarrollo tecnológico, fuertemente centrado en la nanotecnología, junto con el avance del conocimiento en genómica y proteómica, hará posible contar con pruebas diagnósticas cada vez más rápidas, sensibles y específicas. Es esperable contar con sistemas y equipos de tamaño más reducido y capaces de reducir el factor humano al mínimo. Las tecnologías de la información facilitan la descentralización de las pruebas POC permitiendo a su vez la validación centralizada de los resultados y un control prácticamente total del proceso. Existe también una tendencia a implicar al propio paciente en su cuidado, en este sentido ya se han desarrollado pruebas diagnósticas capaces de ser realizadas mediante teléfonos inteligentes.

La incorporación del diagnóstico molecular al POC ya es una realidad, existen en el mercado plataformas exentas de CLIA, como Alere i o Cobas Liat, y es de esperar en un corto periodo de tiempo un número importante de nuevas pruebas basadas en PCR en tiempo real y/o en LAMP que puedan ser procesados por estas y nuevas plataformas, alcanzando el nivel de simplicidad y seguridad de los métodos de flujo lateral. El empleo de la microfluídica permitirá reducir la complejidad de los ensayos, aumentar el número de patógenos detectables en un mismo ensayo, así como reducir los costes. Por otro lado, el reducido tamaño de los sistemas de procesamiento y/o lectura facilitará su implementación en entornos remotos. Otro campo de desarrollo importante es la identificación de marcadores, no relacionados con el microorganismo, que se relacionen con el estado de infección, o capaces de diferenciar infección de origen viral de bacteriana. Algunos de estos marcadores (proteína fijadora de heparina, proteína C-reactiva, procalcitonina, proteína-10 inducible por interferón, etc.) resultan muy prometedores y es esperable que se desarrollen pruebas POC, en formato de flujo lateral, por ejemplo, capaces de detectarlos.

Es por tanto un reto para la Microbiología Clínica definir la mejor manera de incorporar el diagnóstico POC. Es importante destacar el papel de los laboratorios de Microbiología, no solo en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, sino en la vigilancia epidemiológica, lo que constituye un papel fundamental para la toma de decisiones clínicas y de salud pública, permitiendo conocer la epidemiología de los microorganismos, los determinantes de resistencia a los antimicrobianos o la identificación y notificación de brotes o enfermedades de declaración obligatoria. El empleo de pruebas rápidas o POC, centralizado o no, debe asegurar en cualquier situación el mantenimiento de estas funciones, así como conservar los más altos estándares de eficiencia, calidad y seguridad garantizados hasta ahora en los laboratorios de Microbiología Clínica.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Azar MM, Landry ML. Detection of Influenza A and B viruses and respiratory syncytial virus by use of clinical laboratory improvement amendments of 1988 (CLIA)-waived point-of-care assays: a paradigm shift to molecular tests. *J Clin Microbiol.* 2018; 56(7). pii: e00367-18.
2. Becherer L, Bakheit M, Frischmann S, et al. Simplified real-time multiplex detection of loop-mediated isothermal amplification using novel mediator displacement probes with universal reporters. *Anal Chem.* 2018; 90: 4741-4748.
3. Buchan BW, Ledebor NA. Emerging technologies for the clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev.* 2014; 27:783-822.
4. Caliendo AM, Gilbert DN, Ginocchio CC, et al., Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. *Clin Infect Dis.*, 2013; 57 (Suppl 3): S139-170.
5. Chen JH, Lam HY, Yip CC, et al. Evaluation of the molecular Xpert Xpress Flu/RSV assay vs. Alere i Influenza A & B assay for rapid detection of influenza viruses. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018; 90:177-180.
6. Clerc O, Greub G. Routine use of point-of-care tests: usefulness and application in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16:1054-1061.
7. Cohen JF, Bertille N, Cohen R, Chalumeau M. Rapid antigen detection test for group A Streptococcus in children with pharyngitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 7: CD010502.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Evaluation of 11 commercially available rapid influenza diagnostic tests--United States, 2011-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61: 873-876.
9. Chakravorty S, Simmons AM, Rowneki M, Parmar H, Cao Y, Ryan J, Banada PP, Deshpande S, She-nai S, Gall A, Glass J, Krieswirth B, Schumacher SG, Nabeta P, Tukvadze N, Rodrigues C, Skrahina A, Tagliani E, Cirillo DM, Davidow A, Denkinge CM, Persing D, Kwiatkowski R, Jones M, Alland D. The new Xpert MTB/RIF Ultra: improving detection of Mycobacterium tuberculosis and resistance to rifampin in an assay suitable for point-of-care testing. *MBio.* 2017; 8(4). pii: e00812-17.
10. Dolen V, Bahk K, Carroll KC, Klugman K, Ledebor NA, Miller MB. 2017. Changing diagnostic paradigms for Microbiology: report on an American Academy of Microbiology colloquium held in Washington, DC, from 17 to 18 October 2016. <http://doi.org/10.1128/AAMCol.17-18Oct.2016>
11. Drain PK, Hyle EP, Noubary F, et al. Diagnostic point-of-care tests in resource-limited settings. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14:239-249.
12. Drancourt, M, Michel-Lepage A, Boyer S, Raoult, D. The point-of-care laboratory in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29:429-447.
13. Egilmez E, Walker GJ, Bakthavathsalam P, et al., Systematic review of the impact of point-of-care testing for influenza on the outcomes of patients with acute respiratory tract infection. *Rev Med Virol.* 2018; 28(5): e1995.
14. Griffiths C, Drews SJ, Marchant DJ. Respiratory syncytial virus: infection, detection, and new options for prevention and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 30: 277-319.
15. Hassan F, Crawford J, Bonner AB, Ledebor NA, Selvarangan R. Multicenter evaluation of the Alere i influenza A&B assay using respiratory specimens collected in viral transport media. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018; 92:294-298.
16. Howerton D, Anderson N, Bosse D, Granade S, Westbrook G. Good laboratory practices for waived testing sites: survey findings from testing sites holding a certificate of waiver under the clinical laboratory improvement amendments of 1988 and recommendations for promoting quality testing. *MMWR Re-comm Rep.* 2005; 54(RR-13): 1-25; quiz CE1-4.
17. Kozel TR, Burnham-Marusch AR. Point-of-care testing for infectious diseases: past, present, and future. *J Clin Microbiol.* 2017; 55:2313-2320.

18. Leber AL, Everhart K, Daly JA, et al., Multicenter evaluation of BioFire FilmArray respiratory panel 2 for detection of viruses and bacteria in nasopharyngeal swab samples. *J Clin Microbiol.* 2018; 56(6). pii: e01945-17.
19. Mallepaddi PC, Maity SN, Poonati R, et al., Selecting better diagnostic kits for diagnosis of malarial parasites at point of care. *3 Biotech*, 2019; 9(1):36.
20. Monno R, Fumarola L, Mercadante G, et al., Evaluation of a rapid test for the diagnosis of pneumococcal pneumonia. *J Microbiol Methods* 2013; 92:127-131.
21. Niemz A, Ferguson TM, Boyle DS. Point-of-care nucleic acid testing for infectious diseases. *Trends Biotechnol.* 2011; 29: 240-250.
22. Parisi MR, Soldini L, Vidoni G, Mabellini C, Belloni T, Brignolo L, Negri S, Schlusnus K, Dorigatti F, Lazzarin A. Point-of-care testing for HCV infection: recent advances and implications for alternative screening. *New Microbiol.* 2014 Oct;37(4):449-57.
23. Patel R, Karon BS. Advances afoot in Microbiology. *J Clin Microbiol.* 2017; 55:1984-1988.
24. Sturenburg E, Junker R. Point-of-care testing in microbiology: the advantages and disadvantages of immunochromatographic test strips. *Dtsch Arztebl Int*, 2009; 106:48-54.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección de antígeno de <i>Streptococcus pyogenes</i> en muestras faríngeas	PNT-POC-01	
		Edición N° 01	Página 1 de 4

PNT-POC-01

Detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* en muestras faríngeas

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01		Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección de antígeno de <i>Streptococcus pyogenes</i> en muestras faríngeas	PNT-POC-01	
		Edición N° 01	Página 2 de 4

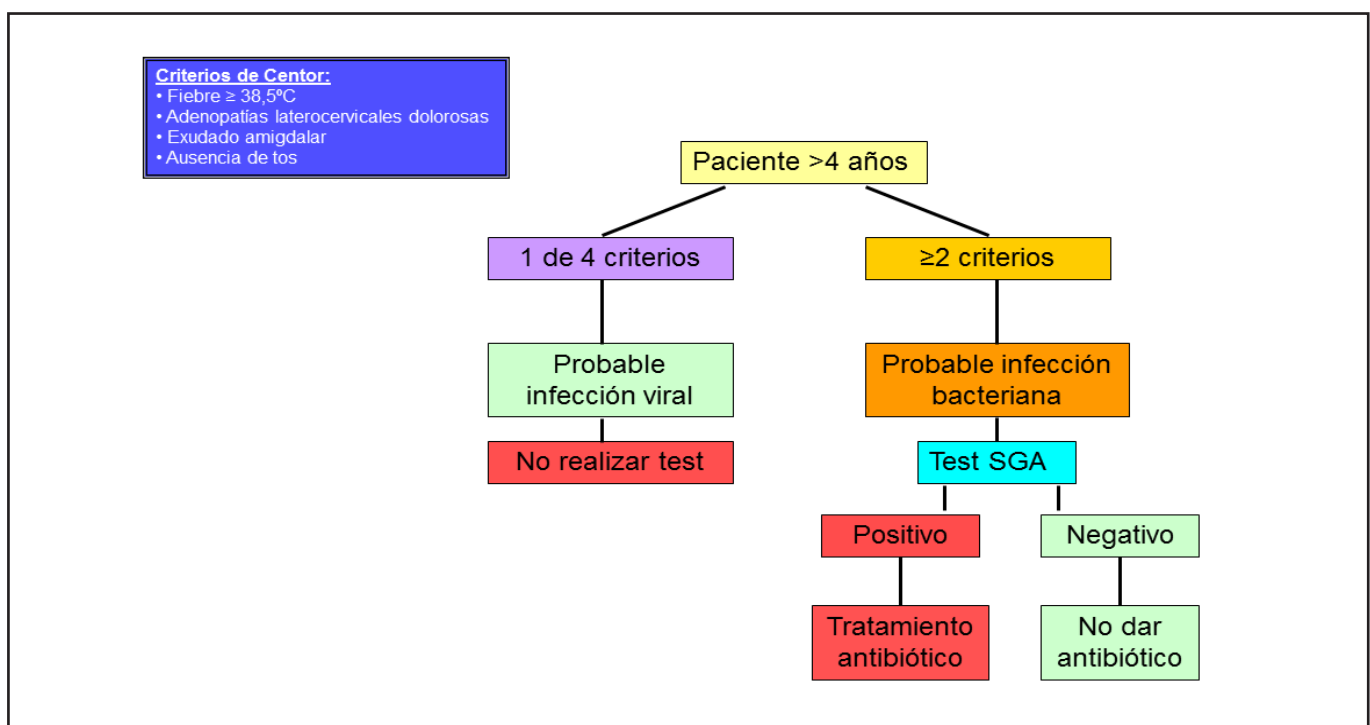
1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Definir la metodología básica para la detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* (SGA) en muestras faríngeas por inmunocromatografía de flujo lateral (ICT). Este procedimiento es aplicable a muestras de exudado faríngeo de pacientes con sospecha de faringitis aguda.

2. FUNDAMENTO

La etiología de la faringitis aguda es fundamentalmente de origen viral y autolimitada por lo que no precisa tratamiento antimicrobiano. En cuanto a las de origen bacteriano el principal agente causal es *Streptococcus pyogenes*, siendo responsables otras bacterias en menos del 5% de los casos, por lo que su detección en la propia consulta del paciente permite la instauración de un tratamiento dirigido. El tratamiento antibiótico está indicado en la infección estreptocócica para evitar las complicaciones supurativas (por ejemplo, absceso periamigdalino y amigdalitis) y las complicaciones no supurativas (por ejemplo, fiebre reumática aguda y cardiopatía reumática) y para reducir la duración de los síntomas y la diseminación de la infección. La detección de antígeno es una prueba rápida y sencilla con elevada sensibilidad y especificidad (superiores al 95%), lo que permite su uso en el punto de atención al paciente. La combinación de un score clínico y posterior detección de antígeno en los casos de alta puntuación es la estrategia más coste-efectiva.

Figura 1. Algoritmo diagnóstico de faringoamigdalitis basado en los criterios de Centor



En niños menores de 4 años es muy frecuente la etiología viral, incluso el estado de portador asintomático. Si la incidencia de SGA en el entorno es elevada, o aparecen signos de infección, se debe considerar la realización de esta prueba.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección de antígeno de <i>Streptococcus pyogenes</i> en muestras faríngeas	PNT-POC-01	
		Edición Nº 01	Página 3 de 4

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

1. Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
2. García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>
3. Giraldez-García C, Rubio B, Gallegos-Braun JF, Imaz I, Gonzalez-Enriquez J, Sarria-Santamera A. Diagnosis and management of acute pharyngitis in a paediatric population: a cost-effectiveness analysis. Eur J Pediatr. 2011;170:1059-67.
4. Ruiz-Aragón J, Rodríguez López R, Molina Linde JM. Evaluation of rapid methods for detecting *Streptococcus pyogenes*. Systematic review and meta-analysis. An Pediatr (Barc). 2010; 72:391-402.

4. MUESTRAS

- La clave para optimizar la detección de antígeno de SGA en muestras clínicas es la recolección y transporte apropiado de la muestra.
- Las muestras deben obtenerse antes del inicio de la terapia antimicrobiana para maximizar el rendimiento diagnóstico. Se obtendrán mediante frotis vigoroso de ambas amígdalas (o fosas amigdalares en pacientes sin amígdalas) y la faringe posterior. Debe evitarse el roce de la torunda con la lengua, la mucosa bucal y el paladar duro.
- La sensibilidad tanto del cultivo como de la prueba de detección de antígeno se correlaciona con el tamaño del inóculo.
- La muestra obtenida para la detección de antígeno no debe utilizarse para cultivo.

5. MATERIALES

Para la realización de la técnica son necesarios:

- Guantes de vinilo o látex
- Hisopos de poliéster (Dacron)
- Contenedor de residuos
- Kit comercial con reactivos de extracción de antígeno y soporte ICT

6. PROCEDIMIENTO

- Añadir los reactivos de extracción, según la indicación del fabricante, a un tubo de reacción.
- Colocar el hisopo con la muestra en el tubo. Mezclar bien por rotación.
- Esperar entre 30-60 segundos.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección de antígeno de <i>Streptococcus pyogenes</i> en muestras faríngeas	PNT-POC-01	
		Edición N° 01	Página 4 de 4

- Desechar el hisopo en un contenedor de bioseguridad adecuado.
- Añadir el contenido del tubo de extracción en el pocillo de muestras del soporte ICT
- Proceder a la lectura antes del tiempo recomendado por el fabricante (no más de 10 minutos).

7. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

- El resultado del test sólo es válido si aparece una banda coloreada en la zona del control interno del ensayo. Si no aparece esta banda el ensayo se considera inválido.
- Además de la banda del control interno, la aparición de una banda coloreada en la zona de reacción de la muestra indica un resultado positivo.
- Si solo aparece la banda correspondiente al control interno, se interpretará como que no se detecta antígeno de SGA o que este está presente en la muestra en niveles por debajo del límite de detección de la técnica.

8. RESPONSABILIDADES

En el caso de pruebas realizadas en el lugar de atención del paciente, el personal de enfermería acreditado para la realización de pruebas en el punto de atención al paciente (POC), es el responsable de la toma de muestras y de la realización de la técnica. En el caso de realizarse en el laboratorio, será el personal técnico el responsable de realizar la recepción de la muestra así como de realizar el ensayo. El personal facultativo tiene la responsabilidad de la interpretación definitiva y del registro informático de los resultados. En el caso de pruebas externalizadas, la información de los resultados, de no poder ser registrada en el soporte informático, deberá enviarse al personal facultativo del laboratorio de Microbiología de referencia, para su validación definitiva.

9. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Esta prueba no diferencia entre individuos portadores o con infección activa.
- Puede obtenerse un resultado falso negativo si la cantidad de antígeno está por debajo del límite de detección de la técnica
- Ante un resultado negativo, debe enviarse una nueva muestra de exudado faríngeo para su cultivo si se mantienen los síntomas y hay alta sospecha clínica de infección bacteriana.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Cohen JF, Cohen R, Levy C, Thollot F, Benani M, Bidet P, Chalumeau M. Selective testing strategies for diagnosing group A streptococcal infection in children with pharyngitis: a systematic review and prospective multicentre external validation study. *CMAJ* 2015; 187:23-32.
2. Plainvert C, Duquesne I, Touak G, Dmytruk N, Poyart C. In vitro evaluation and comparison of 5 rapid antigen detection tests for the diagnosis of beta-hemolytic group A streptococcal pharyngitis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015; 83:105-11.
3. Ruiz-Aragón J, Rodríguez López R, Molina Linde JM. [Evaluation of rapid methods for detecting *Streptococcus pyogenes*. Systematic review and meta-analysis]. *An Pediatr (Barc).* 2010; 72:391-402.
4. Van Brusselen D, Vlieghe E, Schelstraete P, De Meulder F, Vandeputte C, Garmyn K, Laffut W, Van de Voorde P. Streptococcal pharyngitis in children: to treat or not to treat? *Eur J Pediatr.* 2014; 173:1275-83.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial	PNT-POC-02	
		Edición N° 02	Página 1 de 4

PNT-POC-02

Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01		Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial	PNT-POC-02	
		Edición N° 02	Página 2 de 4

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Definir la metodología para la detección genómica de virus respiratorio sincitial (VRS) en muestras del tracto respiratorio por medio de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos.

2. FUNDAMENTO

El virus respiratorio sincitial humano (VRS) es una de las causas más comunes de infección del tracto respiratorio en niños en todo el mundo. También es un patógeno frecuente en personas mayores de 65 años. Es un virus muy contagioso que se disemina con las secreciones nasofaríngeas de los individuos infectados por contacto directo o a través de las gotas de saliva. Las puertas de entrada del virus son la conjuntiva ocular y la mucosa nasal y oral. La transmisión se suele producir por contacto directo, pero también a través de las manos o por contacto con objetos contaminados.

El VRS causa comúnmente bronquiolitis en niños pequeños, enfermedad del tracto respiratorio inferior que cursa con obstrucción de las vías respiratorias, y que puede progresar a neumonía, insuficiencia respiratoria, apnea y muerte. Existe un único tratamiento antiviral para el VRS actualmente aprobado, pero su uso está limitado ya que son cuestionables su eficacia, efectos secundarios y costes, por lo que se recomienda que se use solo para pacientes con riesgo de enfermedad grave, y el tratamiento para la mayoría de las infecciones por VRS es de soporte. Las situaciones de riesgo para el desarrollo de formas graves de infección por VRS son: prematuridad, enfermedades congénitas (cardiopatías, neumopatías, inmunopatías, etc.), niños menores de 6 meses y niños con factores de riesgo social.

El diagnóstico temprano permite intervenir de forma inmediata en la toma de decisiones, facilitando el manejo del paciente y la implementación de medidas de control epidemiológico para evitar la transmisión. En este documento se describe la prueba Alere™ i VRS basada en la tecnología de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos para la detección cualitativa y la diferenciación de los ácidos nucleicos virales del VRS.

La principal limitación de este proceso es la imposibilidad de identificar más de un microorganismo presente en los frascos de hemocultivo (bacteriemias mixtas). Por ello, la realización de la tinción de Gram sigue siendo indispensable antes de comenzar con la identificación por MALDI-TOF.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>
- García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia1b.pdf>

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial	PNT-POC-02	
		Edición N° 02	Página 3 de 4

4. MUESTRAS

La muestra de elección es el frotis nasofaríngeo. En el caso de lactantes o niños menores de 2 años se puede emplear frotis nasal. En ambos casos la muestra se deberá conservar en medio de transporte de virus. Si por algún motivo no se pudiera procesar inmediatamente, las muestras se deben guardar en nevera a 4°C. La viabilidad de los virus en el medio de transporte es variable oscilando entre 2-3 días, por lo que no se recomienda guardar las muestras en nevera más de 3 días.

5. MATERIALES

- Micropipeta y puntas con filtro
- Guantes de vinilo o látex
- Hisopos de poliéster (Dacron)
- Medios de transporte de virus

6. PROCEDIMIENTO

6.1. FUNDAMENTO DE LA PRUEBA Alere™ i VRS.

La prueba Alere™ i VRS se compone de un receptor de muestra, que contiene el tampón de elución; una base de prueba, formada por dos tubos de reacción sellados, que contiene cada uno un sedimento liofilizado; un cartucho de transferencia para la transferencia de la muestra eluida a la base de prueba; y el instrumento Alere™. Los tubos de reacción de la base de prueba contienen los reactivos necesarios para la amplificación, respectivamente, así como un control interno. Para identificar de forma específica el ARN amplificado, se emplean sondas moleculares marcadas con un colorante fluorescente. Para realizar el ensayo, el receptor de muestra y la base de prueba se introducen en el instrumento Alere™. La muestra se añade al receptor de muestra y se transfiere a través del cartucho de transferencia a la base de prueba, de modo que se inicia la amplificación de la diana. El instrumento se encarga del calentamiento, la mezcla y la detección, e informa automáticamente de los resultados.

6.2. REALIZACIÓN DE LA PRUEBA Alere™ i VRS

1. Esperar a que el receptor de muestra se caliente. No retirar el sellado hasta que lo indique el instrumento.
2. Retirar el sellado, colocar el hisopo en el receptor de la muestra y agitar durante 10 segundos presionando la cabeza del hisopo contra el receptor. Opcionalmente, en lugar de usar el hisopo, se pueden añadir 200 microlitros de medio de transporte de virus al contenedor de la muestra y mezclar durante 10 segundos.
3. Presionar el cartucho de transferencia (blanco) en el interior del receptor de muestra (azul) hasta que el indicador (naranja) suba en su parte superior.
4. Retirar y conectar el cartucho de transferencia presionando sobre la base de prueba. El indicador naranja descenderá.
5. Cerrar la tapa. El ensayo comenzará de forma automática.
6. Una vez finalizado el ensayo, retirar los cartuchos y depositarlos en un contenedor de bioseguridad de residuos.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Detección molecular por amplificación isotérmica del virus respiratorio sincitial	PNT-POC-02	
		Edición N° 01	Página 4 de 4

7. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

- El sistema interpreta e informa los resultados como positivo o negativo.
- Si el resultado es inválido se debe repetir el procedimiento.

8. RESPONSABILIDADES

En el caso de pruebas realizadas en el lugar de atención del paciente, el personal de enfermería acreditado para la realización de pruebas en el lugar de atención del paciente (POC), es el responsable de la toma de muestras y realización de la técnica. En el caso de realizarse en el laboratorio, será el personal técnico el responsable de realizar la recepción de la muestra y de realizar el ensayo. El personal facultativo tiene la responsabilidad de la interpretación definitiva y del registro informático de los resultados. En caso de pruebas externalizadas, la información de los resultados, de no poder ser registrada en soporte informático, deberá enviarse al personal facultativo del laboratorio de Microbiología de referencia, para su validación definitiva.

9. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La técnica no está validada para muestras respiratorias distintas de las reflejadas en este documento.
- Un resultado negativo no excluye la presencia de VRS. En caso de sospecha clínica analizar la muestra por los métodos de referencia.
- Un resultado negativo no excluye infección viral. Se recomienda analizar la muestra para detectar la presencia de otros virus.
- Un resultado positivo no excluye la presencia de otros virus.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Azar MM, Landry ML. Detection of influenza A and B viruses and respiratory syncytial virus by use of clinical laboratory improvement amendments of 1988 (CLIA)-Waived Point-of-Care Assays: a paradigm shift to molecular tests. *J Clin Microbiol.* 2018; 56:(7). pii: e00367-18.
2. Gonzalez MD, McElvania E. New developments in rapid diagnostic testing for children. *Infect Dis Clin North Am.* 2018; 32:19-34.
3. Ko F, Drews SJ. The impact of commercial rapid respiratory virus diagnostic tests on patient outcomes and health system utilization. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017; 17:917-931.
4. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet.* 2017; 390:946-958.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central	PNT-POC-03	
		Edición Nº 01	Página 1 de 5

PNT-POC-03

Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados
a infección del sistema nervioso central

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
Nombre / Firma	Fecha	Nombre / Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES
01	2007	Edición inicial

COPIA REGISTRADA Nº.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central	PNT-POC-03	
		Edición N° 02	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel es una prueba de diagnóstico multiplexada y cualitativa para la detección *in vitro* de ácidos nucleicos prevista para utilizarse con los sistemas FilmArray. El sistema permite la identificación de 14 posibles patógenos del SNC a partir del LCR (ver tabla a continuación). Esta técnica se aplicará por tanto en muestras de LCR de pacientes con sospecha de meningitis o encefalitis.

2. FUNDAMENTO

Los microorganismos que causan infecciones del sistema nervioso central (SNC) producen enfermedades inflamatorias del cerebro o de las meninges (meningitis, encefalitis, meningoencefalitis). Aproximadamente el 15% de casos tienen un desenlace fatal y en otros muchos casos dejan secuelas importantes como la pérdida de extremidades, deficiencias visuales y auditivas, convulsiones y alteraciones de la memoria y la capacidad de aprendizaje.

Tal como se ha indicado anteriormente, el FilmArray ME Panel es una prueba de diagnóstico multiplexada y cualitativa para la detección *in vitro* de ácidos nucleicos que se utiliza con los sistemas FilmArray. El FilmArray ME Panel permite la detección e identificación simultáneas de múltiples ácidos nucleicos de bacterias, virus y levaduras directamente de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) obtenidas mediante punción lumbar de individuos con signos o síntomas de meningitis o encefalitis. Los resultados de las pruebas realizadas sobre las muestras con el FilmArray ME Panel están disponibles en aproximadamente una hora, lo que permite influir de forma directa en la optimización del tratamiento.

El FilmArray ME Panel permite la detección de los siguientes organismos:

Bacterias, virus y levaduras detectados por el FilmArray ME Panel

Bacterias	
<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Hamophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Virus	
Cytomegalovirus (CMV) (citomegalovirus)	Enterovirus (EV) (enterovirus)
Human herpesvirus 6 (HHV-6) (herpesvirus humano 6)	Herpes simplex virus 1 (HSV-1) (virus del herpes simple tipo 1)
Human parechovirus (HPeV) (parechovirus humano)	Herpes simplex virus 2 (HSV-2) (virus del herpes simple tipo 2)
Varicella zoster virus (VZV) (virus varicela-zóster)	
Levadura	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

1. Alados Arboledas JC, Gómez García de la Pedrosa E, Leiva León J, Pérez Sáenz JL, Rojo Molinero E. Seguridad en el laboratorio de Microbiología Clínica. 10a. Pérez Sáenz JL (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central	PNT-POC-03	
		Edición Nº 02	Página 3 de 5

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10a.pdf>

2. García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el Laboratorio de Microbiología. 2017. 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2017. Disponible en <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimcprocedimientomicrobiologia1b.pdf>

- Manual FilmArray de interpretación de resultados (Biomérieux)

4. MUESTRAS

El FilmArray Meningitis/Encefalitis (ME) está validado para ser utilizado con muestras de líquido cefalorraquídeo, obtenidas mediante punción lumbar y recogidas en un envase estéril.

5. MATERIALES

- Micropipeta y puntas con filtro
- Guantes de vinilo o látex
- Hisopos de poliéster (Dacron)
- Medios de transporte de virus

6. PROCEDIMIENTO

6.1. FUNDAMENTO DE LA PRUEBA FilmArray Meningitis/Encefalitis

Se indica a continuación un resumen de las operaciones y procesos que tienen lugar durante un análisis FilmArray:

1. Purificación del ácido nucleico: la purificación del ácido nucleico tiene lugar en las tres primeras burbujas plásticas del cartucho. La muestra se lisa por agitación (homogeneización de perlas) y el ácido nucleico liberado se captura, lava y eluye mediante tecnología de perlas magnéticas. Estos pasos requieren aproximadamente diez minutos y el equipo homogeneizador de perlas emite un chirrido agudo durante el primer minuto de funcionamiento.

2. Transcripción inversa y primera etapa de la PCR Multiplex: algunos patógenos identificados mediante el cartucho FilmArray ME son virus de ARN y se realiza una etapa de transcripción inversa (RT) para convertir el ARN vírico en ADNc antes de la amplificación. La solución de ácido nucleico purificada se combina con una mezcla maestra precalentada para iniciar la etapa de RT y el termociclado posterior para la PCR múltiple. El objetivo de la primera etapa de la PCR es enriquecer los ácidos nucleicos diana presentes en la muestra.

3. Segunda etapa de la PCR: los productos de la primera etapa de la PCR se diluyen y mezclan con reactivos de PCR nuevos que contienen un colorante de ADN fluorescente de intercalación (LCGreen® Plus, BioFire Defense, LLC). Esta solución se distribuye en la matriz de la segunda etapa de la PCR. Los pocillos individuales de la matriz contienen los cebadores de los diferentes ensayos (cada uno por triplicado) dirigidos a las secuencias de ácido nucleico específicas de cada uno de los patógenos detectados, así como para el control del material de la plantilla. Estos cebadores están “anidados” o intercalados en los productos específicos de la primera etapa de la reacción múltiple, que potencia tanto la

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central	PNT-POC-03	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

sensibilidad como la especificidad de las reacciones.

4. **Análisis de fusión del ADN:** después de la segunda etapa de la PCR, la temperatura aumenta lentamente y se controla la fluorescencia de cada pocillo, que se analiza para generar una curva de fusión. La temperatura a la que funde cada producto de la PCR específico (temperatura de fusión o Tm) es consistente y predecible, y el programa FilmArray evalúa automáticamente los datos de los pocillos replicados de cada ensayo para notificar los resultados. El programa FilmArray controla el funcionamiento del instrumento/Module, recoge y analiza los datos y genera automáticamente un informe de la prueba al final de la prueba.

6.2. REALIZACIÓN DE LA PRUEBA FilmArray

1. Extraer el cartucho FilmArray de su envase sellado al vacío. Puesto que las soluciones se extraen del cartucho FilmArray ME por vacío, es importante mantener los cartuchos en su envase protector hasta el momento de uso.
2. Colocar el cartucho FilmArray ME en la *FilmArray Pouch Loading Station* (estación de carga de cartuchos FilmArray). La *Pouch Loading Station* (estación de carga de cartuchos) de FilmArray está diseñada para evitar errores gracias a la provisión de instrucciones y pistas visuales en forma de flechas codificadas por colores para garantizar que el cartucho se cargue correctamente.
3. Introducir la *Hydration Solution* (solución de hidratación) en el cartucho FilmArray ME usando el *Hydration Injection Vial* (vial de inyección de hidratación). El vial está provisto de una cánula enromada de acero inoxidable, que se utiliza para suministrar la solución al cartucho. Cuando se introduce la *Hydration Solution* (solución de hidratación) en el cartucho se rehidratan los reactivos liofilizados contenidos en el accesorio del cartucho.
4. Apretar la ampolla del *Sample Buffer* (tampón para muestra) para suministrar el contenido en el *Sample Injection Vial* (vial de inyección de muestra) y añadir la muestra de LCR mediante la *Transfer Pipette* (pipeta de transferencia). Cerrar bien la tapa del *Sample Injection Vial* (vial de inyección de muestra) e invertir para mezclar. El *Sample Buffer* (tampón para muestra) contiene los reactivos que estimulan la unión de los ácidos nucleicos a perlas magnéticas para su aislamiento.
5. Introducir la mezcla del tampón/muestra en el cartucho FilmArray ME mediante el *Sample Injection Vial* (vial de inyección de muestra). Una vez cargada la mezcla, hay que introducir en la muestra un control de proceso incluido en el accesorio del cartucho. El control de proceso vigila todos los procesos críticos que se producen en el cartucho.
6. Transferir el cartucho al instrumento/Module e iniciar la prueba. El programa FilmArray proporciona animaciones en la pantalla que ilustran los pasos necesarios para iniciar el análisis.
7. Visualizar los resultados en el informe de la prueba al finalizar el análisis.

7. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

- El *software* suministrado con el FilmArray Meningitis/Encephalitis, realiza una interpretación de los resultados que deberá ser validada por el facultativo responsable.
- Cualquier resultado solo será válido siempre y cuando se haya producido amplificación y detección del control interno. En caso contrario el resultado deberá considerarse inválido y deberá repetirse el ensayo.

Servicio / Unidad de Microbiología Hospital.....	Panel multiplex para la detección molecular de microorganismos asociados a infección del sistema nervioso central	PNT-POC-03	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

8. RESPONSABILIDADES

Las muestras de LCR deben considerarse como potencialmente contagiosas por lo que deberán ser procesadas en campana de seguridad biológica tomando las medidas adecuadas de bioseguridad. El personal técnico o de enfermería será el responsable de la recepción de la muestra y realización del ensayo. El personal facultativo tiene la responsabilidad de la interpretación definitiva y registro informático e información de los resultados.

9. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El FilmArray ME Panel está indicado como una ayuda en el diagnóstico de agentes específicos de meningitis o encefalitis, y sus resultados deberán utilizarse junto con otros datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio.
- Los resultados del FilmArray ME Panel no se deberán usar como la base exclusiva del diagnóstico, del tratamiento o de otras decisiones de gestión que afecten al paciente.
- Los resultados positivos no descartan la infección simultánea con organismos no incluidos en el FilmArray ME Panel.
- El agente detectado puede que no sea la causa definitiva de la enfermedad. Los resultados negativos no descartan una infección del sistema nervioso central.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Blaschke AJ, Holmberg KM, Daly JA, Leber AL, Dien Bard J, Korgenski EK, Bourzac KM, Kanack KJ. Retrospective evaluation of infants aged 1 to 60 days with residual cerebrospinal fluid (CSF) tested using the FilmArray meningitis/encephalitis (ME) panel. *J Clin Microbiol.* 2018; 56:(7). pii: e00277-18.
2. Dien Bard J, Alby K. Point-counterpoint: meningitis/encephalitis syndromic testing in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol.* 2018; 56(4). pii: e00018-18.
3. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, Cullison J, Daly J, Holt S, Lephart P, Salimnia H, Schreckenberger PC, DesJarlais S, Reed SL, hapin KC, LeBlanc L, Johnson JK, Soliven NL, Carroll KC, Miller JA, Dien Bard J, Mestas J, Bankowski M, Enomoto T, Hemmert AC, Bourzac KM. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray meningitis/encephalitis panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol.* 2016; 54:2251-61.
4. Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ. Evaluation of a commercial multiplex molecular panel for diagnosis of infectious meningitis and encephalitis. *J Clin Microbiol.* 2018; 56:(4). pii: e01927-17.
5. Graf EH, Farquharson MV, Cárdenas AM. Comparative evaluation of the FilmArray meningitis/encephalitis molecular panel in a pediatric population. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017; 87:92-94.