

Aspectos a considerar en la adopción de los puntos de corte de EUCAST en el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

Antes de adoptar en el laboratorio los puntos de corte de EUCAST y los métodos para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos hay que tener en cuenta los siguientes puntos:

1. Contactar con el Comité Nacional de Antimicrobianos (CNA) y seguir las recomendaciones locales para la realización de las pruebas de sensibilidad.
2. Identificar todos los métodos de estudio de sensibilidad utilizados en el laboratorio (difusión con discos, sistemas automáticos, pruebas de dilución, etc.) y asegurarse que todos los métodos están preparados para la adopción de los puntos de corte de EUCAST.
3. Identificar todos los sistemas o procesos que pudieran estar implicados (acreditación del laboratorio, manuales, sistema de información del laboratorio y de comunicación de resultados)
4. Elegir a una persona del laboratorio que dirija y sea la responsable de todo el proceso de implantación de los puntos de corte de EUCAST.
5. Contactar con algún laboratorio que ya haya adoptado el método de estudio de sensibilidad de EUCAST. Facilitar el acceso del personal a ese laboratorio.
6. Identificar e informar a todos los participantes (personal del laboratorio, clientes/usuarios, programas de vigilancia de resistencia a antimicrobianos y distribuidores)
7. Asegurar que todos los materiales para el estudio de sensibilidad están disponibles. Comprobar en la tabla de la página *web* de EUCAST ([preparedness of manufacturers of AST material](#))
8. Establecer un programa de formación de 3 a 6 meses en el laboratorio y predeterminar una fecha para su implementación.
9. Informar a los organizadores de programas externos de calidad.
10. Contactar, si es necesario, con EUCAST (información de contacto disponible en www.eucast.org)

Aspectos para la implementación de los sistemas automáticos

1. Consultar con el Comité Nacional de Antibióticos para conocer las “normativas” nacionales.
2. Asegurar que el sistema puede proporcionar los puntos de corte de EUCAST para todos los antimicrobianos. Contactar con el fabricante para registrar todas las discrepancias entre el sistema y las recomendaciones de EUCAST (éstas pueden haber sido modificadas o ser diferentes entre países y/o instalaciones)
3. En las tablas de EUCAST pueden aparecer un guión (*dash*) o la sigla “IE” (*Insufficient Evidence*, “evidencia insuficiente”) en lugar de puntos de corte. El laboratorio que desee cumplir con las recomendaciones de EUCAST no deberá utilizar otros puntos de cortes en estos casos.

Aspectos relacionados con la implementación del método de difusión con discos según EUCAST

El método de difusión con discos según EUCAST se basa en la utilización de un inóculo confluyente (0.5 de la escala McFarland) en agar Mueller-Hinton con o sin sangre de caballo (5%) y β -NAD (20 mg/L). Es importante seguir las instrucciones del método (disponibles en www.eucast.org)

Detalles importantes:

- **La suspensión del inóculo debe ser equivalente al 0.5 de la escala McFarland**, medida preferiblemente con un dispositivo fotométrico.

Excepción: en el caso de *Streptococcus pneumoniae*, la suspensión será de 0.5 McFarland si el inóculo procede de una placa de agar sangre y de 1.0 McFarland si se obtiene de una placa de agar chocolate.

- **El crecimiento debería ser confluyente y extenderse uniformemente en la placa.**

Si el inóculo es adecuado y la placa se estría correctamente se obtendrán un crecimiento confluyente y halos de inhibición homogéneos. El inóculo debería extenderse uniformemente sobre la superficie del agar para conseguir halos de inhibición reproducibles. Para evitar que el inóculo esté demasiado cargado en el caso de los microorganismos gramnegativos, debe retirarse el exceso de líquido de la torunda presionando suavemente ésta contra el interior del tubo antes de inocular la placa.

- **Seguir la regla del 15-15-15** para obtener resultados reproducibles:
 - Utilizar el inóculo antes de que transcurran 15 minutos desde el momento de su preparación.
 - Colocar los discos en los 15 minutos siguientes a la inoculación de la placa.
 - Incubar las placas antes de que transcurran 15 minutos desde la colocación de los discos.

Esta regla puede parecer difícil de seguir al principio, pero con pequeños cambios en la rutina de trabajo del laboratorio pueden facilitar su cumplimiento.

- **Utilizar discos con el contenido adecuado de antimicrobiano.** Se describen en las tablas de puntos de corte clínicos y de control de calidad de EUCAST y pueden ser diferentes de los que se utilizaban previamente en el laboratorio.
- **No acortar ni prolongar el período de incubación más allá de las 16-20 horas.**
- **Seguir las instrucciones de lectura.**
Los halos deben leerse en el punto de inhibición completa que se aprecie a simple vista. Las placas de agar Mueller-Hinton (MH) no suplementado se leen por el reverso, utilizando un fondo oscuro iluminado con luz reflejada. Las placas de agar Mueller-Hinton suplementado (MH-S) se leen por el anverso, retirando previamente la tapa y utilizando luz reflejada.

Sugerencias para la adopción en el laboratorio del método de difusión con discos según EUCAST: Guía práctica para el responsable de la implantación

1. Entrenar al personal del laboratorio en la metodología de la difusión con discos según EUCAST haciendo especial énfasis en la técnica de inoculación de las placas y en la lectura de los halos. Las correspondientes diapositivas están disponibles en www.eucast.org
2. Iniciar el entrenamiento con la lectura de una misma placa por parte de todo el personal del laboratorio. El objetivo de este ejercicio es unificar la lectura de los halos de inhibición en el laboratorio. El personal nuevo debería realizar estos ejercicios antes de incorporarse a la rutina de trabajo.

Existe una guía de lectura disponible en www.eucast.org.

- Comenzar con la lectura de los halos de inhibición de dos cepas control en agar Mueller-Hinton no suplementado; por ejemplo, *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213. Seleccionar cuatro antimicrobianos que se estudien de rutina para cada especie. Repetir durante tres días seguidos. Comparar los resultados obtenidos por el personal y en los tres días diferentes y comprobar que los valores medios de los diámetros son los esperados y que se encuentran dentro de los rangos esperados según

el control de calidad. Las tablas que recogen los controles de calidad están disponibles en www.eucast.org.

- Discutir los resultados durante las reuniones con el personal. Repetir el ejercicio con las mismas cepas control y los mismos antimicrobianos hasta que todo el personal obtenga el mismo resultado.
 - Repetir el ejercicio con *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. faecalis* ATCC 29212.
 - Repetir el ejercicio utilizando agar MH-F (*Mueller-Hinton Fastidious*, agar Mueller-Hinton suplementado con sangre de caballo al 5% y β -NAD a una concentración de 20 mg/L) con *H. influenzae* NCTC 8468 y *S. pneumoniae* ATCC 49619.
 - Repetir el ejercicio con algunos aislados clínicos de otros microorganismos, como estreptococos de los grupos A, B, C y G. Comparar los resultados individuales con la media del grupo.
3. El siguiente paso es la preparación del inóculo y la inoculación de las placas. La finalidad es obtener un crecimiento homogéneo y confluyente y estandarizar la técnica de inoculación. Los mejores resultados se obtienen cuando se utiliza un nefelómetro o un espectrofotómetro sencillo para controlar la densidad del inóculo y un dispositivo que rote la placa mientras ésta se siembra con una torunda de algodón. Utilizar pocos discos de antimicrobianos para facilitar la lectura.

El personal debería repetir el proceso con todas las cepas control recomendadas por EUCAST. Comparar los resultados obtenidos por el personal y en los tres días diferentes y comprobar que los valores medios de los diámetros se adecuan a los esperados y que se encuentran dentro de los rangos del control de calidad. Las tablas que recogen los controles de calidad están disponibles en www.eucast.org

4. Antes de introducir el método de difusión con discos de EUCAST en la rutina de trabajo del laboratorio, utilizar diariamente las cepas del control de calidad con los discos de antimicrobianos empleados habitualmente hasta que el estudio de sensibilidad cumpla con las especificaciones de EUCAST y esté (debidamente) ajustado en el laboratorio.

**¿Tiene preguntas sobre el método de difusión con discos según EUCAST?
O ¿Necesita ayuda para implementar el método de difusión con discos?**

Por favor, contacte con erika.matuschek@ltkronoberg.se

O con la secretaría de EUCAST