Inoculación automatizada vs manual en Microbiología.

Automated versus manual sample inoculations in routine clinical microbiology.

Froment P,
Marchandin H,
Vende Perre P,
Lamy B. *J Clin Microbiol* 2014;
52: 796-802.

Los equipos automatizados para la inoculación de muestras, en los Laboratorios de Microbiología, parecen ser una manera atractiva de realizar una tarea repetitiva y tediosa. Con la inoculación automatizada se espera mejorar la calidad en la obtención de las colonias aisladas y optimizar el tiempo del técnico de laboratorio.

Objetivo: Comparar un método de inoculación automatizada con el realizado en forma manual. Evaluar la recuperación de cepas bacterianas, calidad de las colonias aisladas, variabilidad, reproducibilidad y tiempo total necesario para la inoculación de muestras y sembrado de placas.

Material y Métodos: El equipo Inoqula (BD Kiestra, B.V.) posee un sistema de pipeteo automático, que dispensa el líquido en placas con agar, diseminando el inóculo sobre el agar con un sistema de esferas magnéticas. Ambos métodos se evaluaron con una mezcla de suspensión bacteriana y 244 muestras clínicas. Las suspensiones bacterianas (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. agalactiae*) se mezclaron para obtener suspensiones polimicrobianas, que contenían entre dos y cuatro especies. Las muestras clínicas fueron de orina y secreciones. Se otorgó una puntuación de calidad de aislado bacteriano (PCA) o "escala de lectura de cultivo" de cuatro categorías: muy pobre (PCA1), pobre (PCA2), bueno (PCA3) y excelente (PCA4). Las colonias se definieron como colonia visible, utilizable (discreta) y no recuperada (no visible). El análisis del rendimiento se hizo en base a la reproducibilidad del instrumento, calidad del aislado, concordancia entre los métodos, número de bacterias discretas recuperadas, recuento de colonias (orina) y tiempo de sembrado. El análisis de la variabilidad de la calidad del aislado de colonias, fue realizado por bacteriólogos elegidos en forma aleatoria para series de tómulas sembradas en forma manual y automática. Para cada serie, se determinó una puntuación normalizada acumulativa (PNA). El PNA fue de 0 (peor calidad) a 100 (mejor calidad). **Análisis estadístico:** La concordancia entre investigadores fue evaluada por índice Kappa y las diferencias entre los grupos fueron evaluadas usando el test de Wilcoxon y Kruskal-Wallis.

Resultados: Se validó la calidad del aislado con 83% de concordancia ($k = 0,73$). El instrumento fue altamente reproducible sin contaminación cruzada. Se obtuvo un alto PCA en el método automatizado; 81% de los cultivos positivos manuales tuvieron PCA2 y 3, mientras que 87% de los automatizados tuvieron PCA3 y PCA4. Ninguno de los dos métodos fue capaz de recuperar todos los tipos bacterianos desde las suspensiones; sin embargo, el instrumento recuperó los microorganismos con mayor frecuencia. El equipo tuvo 24% de mejor recuperación bacteriana. De un total de 147 microorganismos, 38 y 47 no se recuperaron con ninguno de los dos métodos, obteniendo tasas de no recuperación de 25,8 y 32%; respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos con 150 tómulas de

cultivos polimicrobianos: 110 de las tómulas (73,3%) y 348 placas (77,3%) fueron polimicrobianas. La recuperación bacteriana fue mayor con el equipo, tanto en número de colonias visibles y de colonias discretas. Un 1,5% de las colonias fueron sólo recuperadas por el método manual y 5,6% con el equipo automatizado. En las suspensiones la concordancia entre el número de bacterias recuperadas fue baja (52%, $k = 0,21$) con mayor recuperación de colonias por el equipo. En las tómulas, la variabilidad de microorganismos recuperados fue consistente en ambos métodos ($k = 0,74$), mientras que el número de colonias discretas tuvo concordancia menor ($k = 0,57$), debido al menor número de colonias aisladas por el método manual. En las muestras de orinas, 46 de las 94 muestras fueron positivas, con un recuento de colonias entre 10^3 a 10^7 UFC/ml. El recuento de colonias por ambos métodos fue consistente, con un $k = 0,71$. Todas las discrepancias fueron recuentos mayores por el método manual que con el equipo ($p = 0,0002$). En cuanto a la calidad de los aislados, el PNA varió 42% con el método manual y 14% con el automatizado ($p = 0,0007$). El tiempo por técnico para inocular 10 tómulas varió entre 9 a 17 min, con una media de 11 min. El equipo pudo inocular 10 tómulas en una media de 14 min.

Discusión: La evaluación de los aislados de colonias es un paso crítico en el procesamiento de muestras en microbiología, sin embargo, es muy difícil de objetivar. En este estudio, los autores escogieron el número de colonias recuperadas, tipo y número de colonias útiles y un PCA4 como parámetros principales para evaluar el impacto de la automatización en la calidad de los resultados obtenidos. La probabilidad de obtener colonias aisladas se relacionó a un bajo inóculo y a muestras monomicrobianas. Los autores deliberadamente evaluaron ambas técnicas con muestras polimicrobianas, debido a que es lo más cercano a la realidad. En cuanto al rendimiento del equipo, éste recuperó más microorganismos con mayor calidad de los aislados que el método manual, independiente de la experiencia del operador. El número de suspensiones que no tuvo recuperación bacteriana (11,9%), utilizando el inóculo más alto con el método manual, fue decepcionante, con un alto impacto en los resultados diagnósticos. El 24% de mejoría en la calidad del aislado con el equipo podría mejorar la calidad de los resultados finales, pero aún faltan estudios adicionales para confirmar estos resultados. No se observó reducción en el tiempo estimado para sembrar. A pesar de esto, el sistema automatizado permitió una mejora en el flujo de trabajo, mayor recuperación de microorganismos y optimización del trabajo del personal técnico.

Andrea Sakurada

Hospital Clínico de la Universidad de Chile
asakurada@hcuch.cl