

Evaluación exploratoria de CARBAPENOS 5 EN 1 con cepas mexicanas

Diseño, panel, reglas de lectura y manejo de discordancias. Se llama evaluación exploratoria y no validación, a propósito y por escrito.

Este protocolo lo rediseñaron dos jefes de microbiología mexicanos —uno de hospital privado y uno de hospital público— cuando les presentamos la versión anterior y la desarmaron. Casi todo lo que sigue es de ellos.

1. Por qué no se llama validación

La versión anterior de este documento se llamaba «protocolo de validación». Un jefe de microbiología nos contestó lo siguiente, y tenía razón: *«no saben contra qué compararon el casete y tampoco financiarán una referencia verificable. Así no pueden validar detección de familias enzimáticas. Si van a llamar validación a comparar el casete contra una sospecha fenotípica, el estudio nace débil y no me interesa poner el nombre de mi hospital ahí.»*

De modo que cambiamos el nombre y, con él, el alcance. Esto es una **evaluación exploratoria**: describe el acuerdo entre el casete y el mecanismo que el laboratorio participante ya tenía documentado, en un panel acotado, con resultados por familia y sin extrapolar. No estima sensibilidad ni especificidad, no pretende sostener un expediente regulatorio por sí sola y no autoriza a nadie —empezando por nosotros— a decir que el producto «quedó validado».

Compromiso escrito, y va en el convenio. Amunet no publicará, ni en material comercial ni en ningún otro lugar, la palabra «validado» referida a este producto sobre la base de esta evaluación. Tampoco usará el nombre ni el logotipo del laboratorio participante sin autorización escrita y específica para cada pieza.

2. El estado real de la evidencia, antes de que la pida

Todo el desempeño que hoy podemos mostrar viene de **una sola fuente: el estudio del fabricante reportado en el manual, no publicado y sin réplica independiente**. Enterobacteriaceae n=216 con acuerdo positivo de 100 % (IC 95 % 97.3–100) y acuerdo negativo de 93.6 %; *Pseudomonas aeruginosa* n=45 con acuerdo positivo de 100 % sobre 6 positivos de 6, cuyo intervalo va de 61.0 a 100 %.

Hay tres cosas que ese estudio **no** dice y que le van a hacer falta: qué compone exactamente el método de referencia, cuál fue la distribución de aislados por familia y por especie, y cuál fue la tasa de resultados inválidos.

Las estamos pidiendo al fabricante. Mientras no lleguen, ésta es la razón por la que su cepario importa: **el dato que falta lo tiene usted, no nosotros.**

Dos huecos conocidos del panel, declarados de entrada. El casete cubre cinco familias y el formato está cerrado: **no detecta GES**, que en algunos laboratorios mexicanos está apareciendo mientras IMP casi no se ve. Y no tenemos estudio propio de equivalencia entre lotes. Si su epidemiología local está dominada por familias fuera del panel, dígalos antes de empezar: es una razón legítima para no participar.

3. El panel: sólo aislados con mecanismo ya documentado

Es el cambio de diseño más importante y resuelve de un golpe el problema del financiamiento. Como no tenemos presupuesto para pagar secuenciación ni PCR de resolución, **el panel se arma exclusivamente con aislados que ya tengan confirmación molecular o mecanismo documentado por el laboratorio.** Así, cuando el casete y la referencia no coincidan, la resolución no cuesta nada nuevo: se registra contra el dato que ya existe.

Estrato	Mínimo	Nota
KPC confirmado	5 aislados	Con el método de confirmación documentado en el registro
NDM confirmado	5 aislados	Igual
OXA-48 confirmado	Lo que exista	Se reporta por separado, con su n a la vista
VIM confirmado	Lo que exista	Igual
IMP confirmado	Lo que exista	Igual
Sensibles a carbapenémicos	10 aislados	Controles operativos , no «negativos moleculares»: no tienen confirmación y no se les llama así
Resistentes por mecanismo no cubierto	Los que existan	Porinas, eflujo, AmpC o BLEE con porinas cerradas. Son los que más informan sobre falsos reactivos

Meta razonable por sitio: **40 a 60 aislados**. No sale de un cálculo de potencia y no vamos a fingir que sí: sale de lo que permite describir acuerdo por familia con intervalos que signifiquen algo. Los aislados sin caracterizar se quedan fuera del panel, o entran en un bloque aparte marcado *sin resolver* que se reporta por separado.

Nada de porcentajes combinados. Los resultados se informan **por familia**, cada uno con su denominador y su intervalo de confianza. Si de IMP hay dos aislados, se reporta «2 de 2» y se dice que con dos aislados no se concluye nada — no se esconden dentro de un acuerdo global bonito.

4. Lectura: dos lectores, tres categorías, foto

El manual dice que cualquier tono visible se considera positivo. Eso resuelve la química y no resuelve al lector, como nos hizo notar una jefa de microbiología: «*mi química de la mañana y mi química de la noche van a leer diferente, y yo voy a tener discordancias de LECTOR, no de prueba*». Por eso:

1. **Tres categorías por línea:** no reactivo · débil · reactivo. La línea débil no se redondea a ninguno de los otros dos.
2. **Dos lectores independientes y cegados** entre sí, para todos los casetes del panel. Ninguno de los dos conoce el resultado de referencia del aislado.
3. **Fotografía del casete a los 15 minutos**, con el folio visible. La foto es la evidencia y permite una revisión posterior si hace falta.
4. **Si los dos lectores discrepan, se registran ambas lecturas.** No se consensúa, no se llama a un tercero para desempatar. La concordancia entre lectores es un desenlace del estudio, no un estorbo.
5. **Lectura entre los 15 y los 30 minutos:** se anota la hora real. Después de 30 minutos el casete se descarta y se registra como no leído.
6. **Sin línea de control el casete es inválido, no negativo.** Se repite una vez con la misma suspensión y, si vuelve a salir inválido, se cierra como inválido. La tasa de inválidos es un desenlace secundario: ocultarla arruinaría el dato.
7. **Coproductores:** si aparecen dos líneas, se registran las dos. NDM junto con OXA-48 existe en México y el formato lo permite; no se elige la más intensa.

5. Preparación: lo que el manual no estandariza

Un asa de 1 µL no estandariza biomasa —una colonia mucoide de *Klebsiella* y una pequeña de *Pseudomonas* no cargan lo mismo— y eso importa justamente para OXA-48, cuya expresión el propio material describe como a veces débil. Para que los datos de distintos sitios sean comparables, el protocolo fija lo que el manual deja abierto:

- Colonia **fresca, pura y de 18 a 24 horas**, de agar sangre o MacConkey. Verificar pureza antes de correr.
- Un asa de 1 µL, vórtex de **10 segundos**.
- **Dos goteros distintos:** el del buffer (5 gotas ≈ 200 µL) y el de transferencia (3 gotas ≈ 100 µL). Con un solo gotero la aritmética no cuadra.
- El límite de **2 horas a temperatura ambiente aplica a la suspensión**, no a la colonia en placa.
- El buffer no se usa después de 3 meses de abierto. No mezclar componentes de distintos lotes.
- **Dos lotes distintos** proporcionados por Amunet, para explorar variación entre lotes. Se registra el lote de cada casete.
- **Control positivo externo** al recibir cada lote: el control interno del casete sólo demuestra flujo, no desempeño. Amunet proporciona la cepa o el material de control.

6. Qué se registra por cada aislado

Bloque	Variables
Aislado	Folio del estudio. Especie y método de identificación. Fuente clínica de la muestra original. Fecha de aislamiento. Si viene de cepario, condiciones y tiempo de conservación.

Bloque	Variables
Susceptibilidad	CMI o halos de los carbapenémicos evaluados. Método y versión de los puntos de corte. Perfil de otros betalactámicos.
Referencia	Mecanismo documentado, método con el que se confirmó y fecha. Es un requisito de inclusión, no un campo opcional.
Prueba en evaluación	Lote y caducidad. Antigüedad de la colonia. Hora de preparación y de lectura. Lectura del observador 1 y del observador 2, en tres categorías por cada una de las cinco líneas. Validez del casete. Ruta de la fotografía.
Observaciones	Cualquier circunstancia que pudiera explicar una discordancia: colonia mixta, repetición, casete inválido previo, aspecto mucoso.

El cuaderno de recolección lo entrega Amunet, impreso y en electrónico. **Usted no tiene que construir el formato.**

7. Discordancias: se registran, no se resuelven

Una discordancia entre el casete y el mecanismo documentado **no es un error que haya que corregir**. Es el dato. La tentación de repetir hasta que coincida es la forma más común de destruir un estudio de acuerdo.

Situación	Qué se hace
Casete reactivo para una familia, referencia con otra familia	Se registra la discordancia íntegra, con el resultado de referencia del sitio incluido. Nunca se informa como «indeterminado».
Casete reactivo, referencia sin carbapenemasa	Se registra. Es información sobre falsos reactivos y es de lo más valioso del estudio.
Casete no reactivo, referencia con carbapenemasa del panel	Se registra y se marca para revisar la preparación. Es el caso que más importa entender.
Casete no reactivo, referencia con mecanismo fuera del panel	Es un acierto del casete, no una falla. Se registra como tal.
Discordancia entre los dos lectores	Se registran ambas lecturas. No se consensúa.
Casete inválido	Se repite una sola vez con la misma suspensión. Si vuelve a salir inválido, se cierra como inválido.

No hay resolución por tercer método. No tenemos presupuesto para secuenciar ni para PCR de resolución, y no vamos a pedirle que la pague usted. Por eso el panel exige mecanismo ya documentado: la referencia existe antes de empezar, y la discordancia se lee contra ella.

8. Análisis: qué se puede decir y qué no

Como el comparador no es un estándar de referencia absoluto, los resultados se informan como **acuerdo positivo, acuerdo negativo y acuerdo global**, con intervalos de confianza, y **nunca como sensibilidad, especificidad o exactitud**. Esas tres palabras implican una verdad clínica que un estudio de acuerdo no midió.

- Resultado por aislado, con el detalle completo en un anexo.
- Acuerdo por familia, cada uno con su denominador. Donde el n no lo permita, se dice que no lo permite.
- Concordancia entre lectores, y proporción de líneas débiles.
- Tasa de casetes inválidos.
- Comparación entre los dos lotes.
- Listado íntegro de discordancias, con el resultado de referencia de cada una.

9. Criterios de paro

- **Tasa de inválidos superior al 10 %** sostenida en 20 casetes consecutivos. Se suspende, se revisa lote y técnica, y se reanuda sólo si se identifica la causa.
- **Diferencia apreciable entre lotes**. Se detiene hasta verificar equivalencia.
- **Cualquier indicio de que un resultado de la evaluación influyó en la atención de un paciente**, en el reporte al clínico o en una decisión de aislamiento. Se detiene el sitio, se revisan todos sus casos y se reinstruye.
- **Dictamen de la comisión de investigación** de la institución, en cualquier momento.
- **Solicitud del laboratorio participante**, sin justificarla y sin penalización.

10. Qué aporta cada parte

Amunet aporta	El laboratorio aporta
Casetes para el panel completo más 20 % de reposición, en dos lotes distintos	Los aislados de su cepario, con su mecanismo ya documentado
Buffer, tubos, goteros, material de control y el envío	Medios, horas de personal y espacio de trabajo
Capacitación de dos horas para el personal que va a correr y leer	El dictamen de su comisión de investigación
Cuaderno de recolección impreso y electrónico	El registro fiel, incluidos inválidos, líneas débiles y discordancias
Borrador de convenio y carta de confidencialidad	La revisión de su jurídico
Análisis estadístico e informe del sitio y del conjunto	Un contacto responsable del estudio

Lo que no está cubierto, dicho de frente: el tiempo de su personal no está pagado, y no hay presupuesto para confirmación molecular nueva. Un laboratorio calculó entre 80 y 120 horas-persona para un panel de 60 a 100 aislados. Preferimos que haga esa cuenta antes de firmar y no después.

11. Qué pasa si la evaluación sale mal

Fue la pregunta que los dos microbiólogos hicieron y que la versión anterior no contestaba: «*si mi acuerdo negativo sale 85 y no 93, ¿qué pasa con el convenio, con mis datos, con la coautoría? Quiero esa respuesta antes de firmar, no durante.*» La respuesta va aquí y va en el convenio:

Sin letra chica

Los datos siguen siendo suyos. El convenio no cambia. La coautoría no cambia. Las discordancias se publican íntegras. Un resultado desfavorable es un resultado, y se reporta igual que uno favorable — no hay cláusula que nos permita retenerlo, suprimirlo ni condicionar nada a que salga bien.

12. Uso del resultado: ninguno, y sin excepciones

Ningún resultado de esta evaluación se reporta al clínico, se anota en el expediente, se usa para decidir aislamiento o cohorte, se usa para elegir tratamiento, ni sustenta una notificación epidemiológica o la declaración de un brote. Vive en el cuaderno del estudio.

Una precisión que conviene tener a la mano. La familia enzimática *sí* tiene consecuencias terapéuticas — NDM y KPC no se tratan igual— y por eso mismo es el uso que un resultado de investigación no puede dirigir. Cuando el epidemiólogo pregunte por qué no puede usar la línea que acaba de ver, ésta es la respuesta: no porque el dato no importe, sino porque importa demasiado para sostenerlo en un método no autorizado. Conviene que el protocolo defina por escrito quién tiene acceso a los resultados de la evaluación y quién no.

Para revisar el protocolo completo o proponer cambios

Enviamos el protocolo formal, el cuaderno de recolección y el borrador de convenio para que su comisión de investigación y su jurídico los evalúen, sin compromiso de participación.

[WhatsApp 222 225 7979](https://api.whatsapp.com/send?phone=2222257979) · info@amunet.com.mx · amunet.com.mx

Referencias

- [1] Manual de uso CARBAPENOS 5 EN 1 (REF DMCRB01), estudio del fabricante. Informe interno, no publicado en revista con revisión por pares, sin réplica independiente. El método de referencia no está desglosado.
- [2] U.S. Food and Drug Administration. *Statistical Guidance on Reporting Results from Studies Evaluating Diagnostic Tests*. 2007. Fundamento del uso de acuerdo positivo, negativo y global cuando el comparador no es un estándar de referencia.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (M100), edición vigente, y *Point-of-Care Testing* (POCT04), 3.ª ed., 2016 (reafirmada 2023).
- [4] World Health Organization. *Bacterial priority pathogens list*. Enterobacterales resistentes a carbapenémicos como prioridad crítica.
- [5] *Evidencia de contexto sobre otros ensayos inmunocromatográficos — no valida DMCRB01*: Rahmani K, et al. Evaluation of a lateral flow immunoassay for detection of carbapenemases. *Indian J Med Res*. 2024. doi:10.25259/IJMR_1976_2024 (otro ensayo, 87 aislados frente a secuenciación completa del genoma).
- [6] **Origen del diseño**: las secciones 1, 3, 4, 7 y 11 recogen las contrapropuestas de dos jefes de microbiología mexicanos —hospital privado de tercer nivel y hospital público— formuladas al revisar la versión anterior de este protocolo en agosto de 2026.