LAB-acta 1998;10:89-92

Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios XIX Diagnóstico de la calidad en bacteriología médica.

***Carlos Aquino Santiago, **Lugo de la Fuente Gustavo, ***Lilia M. Fuentes Mancilla, Ruth E. Guerrero Martínez, ***Sergio I. Alva Estrada**

Abstract

Altough Microbiologycal Quality Control and External Quality Assessment (EQA) started in 1927 and 1967 respectively, they have not been completely developed.

The external quality assessment programs agree that this participation contributes to improve the analytical quality, with additional benefits.

EQA programs evaluate: microscopic characteristics, colonial morphology, media for isolation and identification, antibiotics susceptibility test and analytical method used.

This paper shows 151 results of several laboratories from different states of Mexican Republic, that analyzed a *Yersinia enterocolitica* inoculated samples.

They reported: microscopic characteristics, isolation and identification culture medium, genus and specie.

Results were reviewed and the laboratories that identify microorganism genus were approved. Of the total, 43% were approved and 57% did not. Of the approved laboratories, 27.3% have manual systems and 85.4% automated ones.

Keywords. *Microbiologycal Quality Control. Methodology. Results.*

Resumen

El control de calidad en microbiología, se inició en 1927 y la evaluación externa (EE) en 1967. Sin embargo, el desarrollo no ha sido uniforme.

Los programas de evaluación externa coinciden en que la participación contribuye a mejorar la calidad analítica, con beneficios adicionales.

Los programas de EE consideran: características microscópicas, morfología colonial, medios para aislamiento e identificación, pruebas de susceptibilidad a antibióticos, número de antibióticos y método de prueba utilizado.

Se presentan resultados de 151 laboratorios de diversas instituciones y estados de la República Mexicana, que analizaron una muestra con *Yersinia enterocolitica*.
Se proporcionaron datos clínicos congruentes con el microorganismo e informaron: características microscópicas y tintoriales, medios de cultivo para aislamiento e identificación, género y especie. Acreditaron la evaluación quienes identificaron el género del microorganismo.

Del total, 43% acreditaron y 57% no acreditaron. De los laboratorios con sistemas manuales, acreditó 27.3% y de los automatizados 85.4%.

Palabras clave. *Control de calidad en microbiología. Resultados obtenidos. Métodos de prueba.*

Introducción

En la bibliografía relacionada con la calidad en los laboratorios clínicos, se utilizan los términos: Aseguramiento de la Calidad (AC) (Quality Assurance), Control de Calidad (CC) (Quality Control), Mejoría de la Calidad (MC) (Quality Improvement), y Evaluación Externa (EE) o Pruebas de Aptitud (Proficiency Testing). El AC engloba las otras tres etapas. El CC involucra todas las actividades necesarias para la prevención y corrección de errores. La MC incluye las actividades necesarias para mejorar los procedimientos analíticos como la selección de métodos específicos, y la EE es la comparación de resultados de diferentes laboratorios que analizaron una misma muestra problema, de origen natural o artificial (pseudomuestras), con el propósito de establecer el grado de confiabilidad analítica.[1]

El estudio de la calidad en el área de microbiología, en algunos países se inició desde hace años, sin embargo,

* Profesor investigador del Departamento de Microbiología y Jefe del Laboratorio de Bacteriología Médica, ENCB-IPN;
** Profesor investigador del Departamento de Microbiología, ENCB-IPN;
*** Profesor investigador del Departamento de Bioquímica, ENCB-IPN; becario de COFAA y del Programa de Estímulo al Desempeño Docente.

Correspondencia: Dr. en C. Sergio I. Alva Estrada, Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Prol. De Carpio y Plan de Ayala, Colonia Sto. Tomás, 11340 México, D.F. Fax: 341-92-38

en muchos otros aún no se realiza; consecuentemente el grado de desarrollo no ha sido uniforme. Entre los diferentes países destaca Hungría, que en 1927 comenzó el AC, y a partir de 1984 incorporó la EE.[2] Los otros países y el año en que iniciaron la EE son: Australia 1967,[3] Finlandia 1971,[4] Canadá 1974,[5] Italia 1980,[6] Reino Unido 1982,[7] Japón 1982,[8] Suiza 1983[9] y Noruega 1984.[10] En Canadá e Italia la participación en programas de EE es obligatoria, en los países restantes es voluntaria.

En todos los programas de EE, hay coincidencia en que la participación de los laboratorios contribuye a la mejoría de la calidad analítica y señalan beneficios adicionales, como el poner de manifiesto las causas de mala calidad, lo que permite desarrollar estrategias para su control. Algunos de los programas de EE señalan que la mayoría de los laboratorios participantes ya lograron niveles de buena y excelente calidad.[2]

Los diferentes aspectos que incluyen y estudian los programas señalados de EE son: características microscópicas, características del cultivo, morfología colonial, tipo de medios para el aislamiento e identificación, pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, número de antibióticos seleccionados y método de prueba utilizado.[8]

La Comunidad Europea en 1993,[6] tomó la iniciativa de uniformizar los programas de AC, en la sección de microbiología; entre las pruebas que se incluyen en la EE se mencionan la evaluación del análisis de esputo para la identificación de bacilos ácido-alcohol resistentes[11] y el cultivo de los mismos,[12] la determinación de toxinas bacterianas[13] de antígenos virales,[14] y otras más.

En México, la EE en microbiología fue iniciada en 1990, en un programa regional en el estado de Tabasco, por el Químico Sergio León Ramírez, Director del Laboratorio Regional de Salud Pública del Estado y, a nivel nacional por el M. en C. Octavio Novoa Farías, este último dentro del programa de EE de la Asociación Mexicana de Bioquímica. Desafortunadamente en ninguno de los casos se han publicado resultados.

Cada vez que se inicia una sección dentro del Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios, se descubren deficiencias en la calidad, que se van superando paulatinamente.[15] Esta es la razón de haber incorporado al PECEL el área de microbiología, de la que se presentan, en este trabajo, los resultados de la primera evaluación.

Material y Métodos

A 180 laboratorios pertenecientes a 28 estados de la República Mexicana, de diversas instituciones privadas y gubernamentales que manifestaron su interés por participar en la sección de bacteriología, se les envió una muestra problema, misma que fue preparada a partir de una cepa pura de *Yersinia enterocolitica* y sembrando por picadura en medio base de gelosa sangre, endurecida con agar al 2%, en lugar del 1.5% que se utiliza normalmente, con el objetivo de mantener la consistencia sólida y la humedad óptima durante el transporte. Al no tener inhibidores ni substancias bactericidas, este medio es de gran utilidad porque asegura la viabilidad de la cepa.

Como datos clínicos, a los participantes se les informó que la muestra fue aislada de heces de un paciente menor de 5 años con cuadro de gastroenteritis aguda, que había ingerido productos lácteos provenientes de una área rural visitada recientemente.

Se les solicitó que informaran las características microscópicas y tintoriales. Además, que tomando en cuenta los datos clínicos proporcionados, aislaran el microorganismo e identificaran su género y especie. También se les solicitó que informaran los medios de cultivo utilizados para el aislamiento y la identificación.

Utilizando el programa excel de Microsoft, se concentró y organizó la información, incluyendo el tipo de medios de cultivo utilizados para el aislamiento e identificación, el tipo de sistema analítico utilizado (manual o automatizado) y el microorganismo informado.

Se consideraron acreditados a los laboratorios que identificaron al menos el género del microorganismo.

Resultados

De los 180 laboratorios a los que se les envió muestra problema, 151 informaron resultados, de los cuales 110 realizaron el análisis manualmente y 41 con autoanalizador.

Acerca de las características tintoriales, 127 participantes informaron que se trataba de un microorganismo Gram negativo, uno que era Gram positivo y 23 no informaron.

En el cuadro 1 se presenta para el conjunto de laboratorios, el número y porcentaje de acreditados y no acreditados, y en el cuadro 2 lo mismo, pero de acuerdo al sistema analítico utilizado.

En el cuadro 3 se muestra el número y porcentaje de laboratorios que utilizaron los diferentes medios de cultivo señalados en el mismo.

En el cuadro 4 se señalan los microorganismos informados por los participantes y la frecuencia.

Cuadro 1. Resultados generales de la Evaluación de Calidad en la identificación de una enterobacteria

	Número	Porcentaje
Total	151	100
Acreditados	65	43
No. Acreditados	86	57

Cuadro 2. Resultados de la Evaluación de la Calidad en la identificación de una enterobacteria, por sistema analítico utilizado

	Total		Acreditados		No. Acreditados	
Sistema	n	%	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Manual	110	73	30	27.3	80	72.7
Automatizado	41	27	35	85.4	6	14.6

La figura 1 presenta la distribución de frecuencias del número de pruebas bioquímicas utilizadas por los participantes, para la identificación.

Discusión

Es evidente que el laboratorio que informó que el microorganismo recibido correspondía a un bacilo Gram positivo, tiene un problema en su técnica de tinción, ya que la *Yersinia enterocolitica* que fue el microorganismo problema, es una enterobacteria Gram negativa.

En el cuadro 1 se aprecia que del total de laboratorios, es mayor el porcentaje de laboratorios no acreditados (57%) que el de acreditados (43%). Estos resultados señalan de manera general que hay serias deficiencias en la identificación de la enterobacteria utilizada y muy probablemente de otras.

Al comparar los resultados obtenidos en sistemas manuales y automatizados (cuadro 2) se aprecia un gran contraste, ya que en los primeros sólo acreditó un 27.3% y los segundos un 85.4%. Esto muy probablemente se debe a que en los sistemas manuales no se utilizan las pruebas bioquímicas más adecuadas para la identificación de enterobacterias o cuyos resultados no se interpretan correctamente o bien a ambos factores, situación poco probable en los equipos automatizados, que evidentemente se diseñan cuidadosamente.

Cuadro 3. Medios de cultivo utilizados por los laboratorios para el aislamiento

Medio de cultivo	Número	Porcentaje
Agar azida	1	0.7
Agar sal manitol	35	23.0
Eosina azul de metileno	60	40.0
Gelosa chocolate	26	17.0
Gelosa sangre	92	61.0
MacConkey	98	65.0
Sabouraud	1	0.7
Salmonella y Shigella	25	16.0
Tergitol 7	4	2.6
Tioglicolato	8	5.3
Verde brillante	25	16.0
Vogel Johnson	1	0.7
Xilosa-lisina-desoxicolato	29	19.2

De los resultados con equipos automatizados (cuadro 2), llama la atención que seis laboratorios no lograron la identificación del microorganismo. Estas fallas pueden presentarse si no se consideran los siguientes factores: La suspensión de bacterias para prueba, no debe provenir de medios muy selectivos (SS, VB o SB). El inóculo debe ser preparado de un medio rico o poco selectivo. El cultivo de prueba no debe ser mayor de 24 horas y la suspensión en una concentración adecuada no debe presentar burbujas. También debe considerarse que algunos sistemas automatizados requieren de pruebas adicionales como oxidasa, catalasa, indol y hemolisina, que son pruebas no automatizadas y por lo tanto expuestas a un error mayor.

En la actualidad hay una gran variedad de medios de cultivo disponibles y varios coinciden en su utilidad, razón por la cual es esperable la diferente frecuencia de utilización observada por los laboratorios participantes (cuadro 3); sin embargo, algunos de los medios de cultivo que informaron haber utilizado los participantes son cuestionables con base a los datos clínicos proporcionados, por ejemplo los medios de Sabouraud, agar sal manitol, Vogel Johnson y agar azida, que no son recomendados para el aislamiento de enterobacterias.

Cuadro 4. Microorganismos informados por los diferentes laboratorios participantes. El problema fue *Yersinia enterocolitica*

Género	Número	Porcentaje
Aeromonas	1	0.7
Alcaligenes	3	2.0
Bacillus	1	0.7
Brucella	2	1.3
Escherichia	45	29.8
Enterobacter	3	2.0
Klebsiella	2	1.3
Morganella	3	2.0
Proteus	4	2.6
Pseudomona	1	0.7
Shigella	7	4.6
Yersinia	65	43.0
Sin desarrollo	14	9.3
Total	151	100

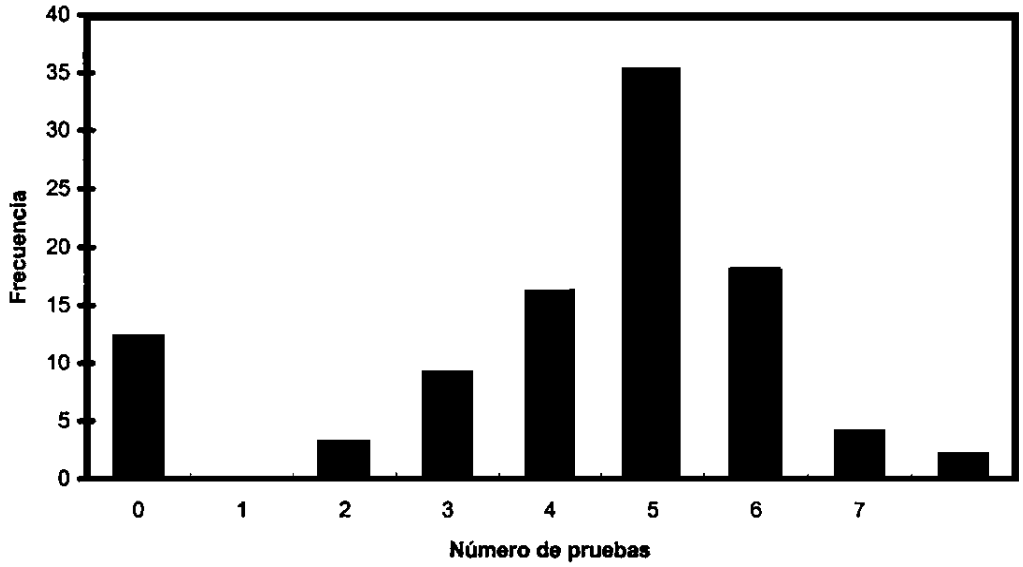

Figura 1. Distribución de frecuencias del número de pruebas bioquímicas utilizadas por los participantes.

En el cuadro 4 se aprecia una gran diversidad en los microorganismos informados por los participantes, esto demuestra claramente la magnitud del problema. En el mismo cuadro resalta la segunda cifra mayor (29.8%) que corresponde a *Escherichia coli*, que puede decirse que es la que con mayor frecuencia se confunde la *Yersinia enterocolitica*. Al respecto, es pertinente hacer ver que el microorganismo enviado fue seleccionado para evaluar la eficiencia en la identificación de enterobacterias, ya que al igual que *Escherichia coli* presenta un brillo metálico en medios de cultivo comunmente utilizados como el EMB. Así, los resultados sugieren que algunos de los laboratorios dieron mayor peso a las características coloniales que a las pruebas bioquímicas, o que no realizaron el tipo y número de pruebas necesarias, como sugieren los resultados mostrados en la figura 1, en la que se aprecia que 36 laboratorios utilizaron 4 o menos pruebas.

Referencias

1. Woods GL, Ridderhof JC. Quality assurance in the mycobacteriology laboratory. Quality control, quality improvement and proficiency testing, Clin Lab Med 1996; 16(3):657-75.
2. Lanyi B. Quality assurance in clinical bacteriology —a continous development in Hungary since 1927, Acta Microbiol Hung 1993;40(3):239-47.
3. Ackerman VP, Pritchard RC. External quality assurance in microbiology. The programme of the Royal College of Pathologists of Australasia, Pathology 1984;16(3):235-9.
4. Gronroos P, Hohenthal U, Karjalainen U, Leskinen E, Pikkarainen R, Rajamaki A, Saris NE, Tenhunen R. External quality assessment programs in Finland 1971-1983, Scand J Clin Lab Invest Suppl 1984;172:179-86.
5. Richardson H, Wood D, Whitby J, Lannigan R, Fleming C. Quality improvement of diagnostic microbiology through a peer-group proficiency assessment program. A 20-year experience in Ontario. The Microbiology Committe, Arch Pathol Lab Med 1996;120(5):445-55.
6. Viscari G. External quality assessment programs in Italy. Ann Ist Super Sanita 1991;27(3):467-8.
7. Snell JJ, Brown DF, Gardner PS. An antibiotic susceptibility testing trial organised as part of the United Kingdom national external microbiological quality assessment scheme, J Clin Pathol 1982;35(11):1169-76.
8. Kumasaka K. Review of quality control program for clinical microbiology by the Tokyo Metropolitan Goverment, Rinsho Byori 1993;41(5):578-82.
9. Siegrist HH, Frei R, Putner V, von Graevenitz A. Swiss quality control in bacteriology and mycology 1989-1991, Schweiz Med Wochenschr 1992;122(48):1831-7.
10. Lassen J, Sandven P. External quality assessment for clinical microbiological laboratories in Norway 1984, NIPH Ann 1985;8(1):27-35.
11. Rieder HL, Arnadottir T, Tardencilla GAA, Kasalika AC. Evaluation of a standarized recording tool for sputum smear microscopy for acid-fast bacilli under routine conditions in low income cuntries. Int J Tuberc Lung Dis 1997;1(4):339-45.
12. McCarter YS, Robinson A. Quality evaluation of sputum specimens for mycobacterial culture. Am J Clin Pathol 1996;105(6):769-73.
13. Snell JJ, Demello JV, Gardner PS, Kwantes W, Brooks R. Detection of toxin production by Corynebacterium diphtheriae: results of a trial organised as part of the United Kingdom National External Microbiological Quality Assessment Scheme. J Clin Pathol 1984;37(7):796-9.
14. Reed SE, Gardner PS, Snell JJ, Chai O. United Kingdom Scheme for external quality assessment in virology. Part I. General Method of operation. J Clin Pathol 1985;38(5): 534-41.
15. Alva-Estrada SI, Fuentes-Mancilla L, Cabañas-Cortés EM, Sánchez-Manzano RM. Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XVII La calidad en química clínica, dentro de límites. LAB-acta 1998;10(1)31-6.