

Comportamiento de los indicadores de calidad del cultivo en los laboratorios de diagnóstico de micobacterias en la provincia de Las Tunas, Cuba

MARÍA ROSARYS MARTÍNEZ ROMERO* 

MARISOL DÍAZ ALMAGUER†

ERNESTO MONTORO CARDOSO*

* Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones en Tuberculosis y Micobacterias. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Centro Colaborador OPS/OMS. Ciudad de La Habana, Cuba.

† Laboratorio de Microbiología Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Ernesto Guevara". Las Tunas, Cuba.

Trabajo recibido: 25-III-2009; aceptado: 07-I-2010

Conflictos de intereses: ninguno

RESUMEN

266

Introducción: La finalidad del control de calidad del cultivo es mejorar continuamente su eficiencia y uso como alternativa de diagnóstico y seguimiento, asegurando que la información generada por el laboratorio sea confiable.

Métodos: Se calcularon los indicadores de calidad, de acuerdo con el manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis de la Organización Panamericana de la Salud a 7,590 muestras de esputo procedentes de pacientes con cultivo positivo, recibidos en dos laboratorios de micobacterias de la provincia Las Tunas de octubre 2003 a diciembre 2005.

Palabras clave: Cultivo, indicadores de calidad, tuberculosis, laboratorio.

Panamericana de la Salud a 7,590 muestras de esputo procedentes de pacientes con cultivo positivo, recibidos en dos laboratorios de micobacterias de la provincia Las Tunas de octubre 2003 a diciembre 2005.

Key words: Culture, quality indicators, tuberculosis, laboratory.

Resultados: La tasa de contaminación fue de 4.5 y 0.3% en el Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) y Centro Municipal

de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CMHEM) de Puerto Padre, respectivamente. El aporte del cultivo al diagnóstico fue de 17.9% en el CPHEM y 27.3% en el CMHEM de Puerto Padre. El porcentaje de pacientes con frotis para bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) positivo y cultivo negativo fue de 7.7% en el CPHEM y nulo en el CMHE.

Conclusiones: Los indicadores de calidad en el laboratorio del CPHEM del municipio de Las Tunas, ex-

ABSTRACT

Background: The purpose of the quality control of culture is to constantly improve its efficiency and use as a diagnostic and monitoring alternative, thus assuring that the information generated by the laboratory is reliable.

Methods: Quality indicators, as suggested by the Pan-American Health Organization manual for the bacteriological diagnosis of tuberculosis, were calculated in 7,590 sputum samples from patients with positive culture received in two mycobacterial laboratories from Las Tunas province from October 2003 to December 2005.

Results: The contamination rate was 4.5% and 0.3% in the Hygiene, Epidemiology and Microbiology Provincial Center (HEMPC) and the Hygiene, Epidemiology and Microbiology Municipal Center (HEMMC) of Puerto Padre, respectively. The culture contribution to diagnosis was 17.9% in HEMPC and 27.3% in HEMMC. The percentage of patients with positive acid-fast bacilli (AFB) smear and negative culture was 7.7% for HEMPC and null for HEMMC.

Conclusions: Quality indicators of culture in the HEMPC laboratory of Las Tunas province had acceptable values according to international standards, excepting the percentage of AFB-positive/culture negative cases, and the contribution of culture to diagnosis and the contamination rate in the HEM-

ceptuando el porcentaje de casos BAAR-positivo/cultivo negativo, y los indicadores de aporte del cultivo al diagnóstico y tasa de contaminación en el laboratorio del CMHEM de Puerto Padre, presentaron valores aceptables según las normas internacionales. La introducción del cálculo de los indicadores de calidad del cultivo en la red de laboratorios de micobacterias permitirá conocer y evaluar los resultados del trabajo, y así mejorar el rendimiento y la calidad del diagnóstico de la tuberculosis en Cuba.

INTRODUCCIÓN

Por décadas el diagnóstico de la tuberculosis (TB) ha dependido de la observación directa de los bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) y la demostración de *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) en el cultivo. La coloración de Ziehl-Neelsen es el procedimiento más comúnmente usado para indicar la presencia de BAAR en el esputo, pero su sensibilidad es más baja que la del cultivo.^{1,2}

El cultivo bacteriológico es la prueba de oro para el diagnóstico definitivo de la TB. Según el método de descontaminación y el tipo de medio de cultivo utilizado, pueden ser detectadas hasta un mínimo de 10 células viables por mililitro de esputo. Mediante los métodos de cultivo es posible extender la confirmación del diagnóstico de TB en aproximadamente 15 a 20% del total de casos y del 20 a 30% de los pacientes con TB pulmonar. Además, la detección de los enfermos es más temprana, con frecuencia antes de volverse infecciosos. Por otra parte, el cultivo permite determinar un número reducido de bacilos presentes en la muestra, de esta manera puede aumentarse considerablemente la eficiencia en el diagnóstico de los fracasos al finalizar el tratamiento. Sin embargo, el cultivo es mucho más caro que la baciloscopia, es preciso contar con cabinas de seguridad biológica clase II ó III para el procesamiento de las muestras, tener instalaciones para la preparación de los medios de cultivo y, además, el personal debe estar capacitado y entrenado.³⁻⁶

El control de calidad de los cultivos es un sistema de supervisión interna eficaz de los resultados del trabajo de los laboratorios, permite

MC laboratory of Puerto Padre. Introduction of these quality indicators of culture to the national network of mycobacterial laboratories will permit to know and to evaluate the results of the laboratory work, thus improving the yield and the quality of tuberculosis diagnosis in Cuba.

mejorar continuamente la eficiencia y el uso del mismo como una alternativa de diagnóstico y seguimiento, asegurando que la información generada por el laboratorio sea confiable y exacta.^{3,6,7}

Mediante el presente trabajo nos propusimos evaluar los indicadores de calidad del cultivo de las muestras de esputo recibidas en los laboratorios de diagnóstico de micobacterias de la provincia Las Tunas, Cuba, con el propósito de mejorar el rendimiento y la calidad del diagnóstico de la TB.

MATERIAL Y MÉTODOS

267

Se calcularon los indicadores de calidad en 7,590 cultivos de muestras de esputo de la provincia de Las Tunas. De ellas, 4,952 pertenecían al laboratorio del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) y 2,638 al laboratorio del Centro Municipal de Higiene y Epidemiología y Microbiología (CMHEM) de Puerto Padre, en el período de octubre de 2003 a diciembre de 2005.

Fueron incluidas en el estudio las muestras de diagnóstico y seguimiento del tratamiento y se excluyeron las que resultaron no útiles para cultivo (muestras escasas y/o derramadas).

Las muestras, después de realizar la baciloscopia fueron descontaminadas utilizando el método de Petroff modificado, posteriormente fueron inoculadas 0.2 décimas en dos tubos con medio de Lowenstein Jensen (LJ) e incubados a 37°C por ocho semanas, realizando la lectura de forma semanal según lo establecido en el Manual de Normas y Procedimientos del Programa Nacional de Control de la TB.⁸

Para calcular los indicadores de calidad de los cultivos se clasificó a los pacientes con cultivo

confirmado bacteriológicamente en varias categorías, según la bibliografía consultada:^{6,7}

- A) BAAR-positivo/cultivo-positivo
- B) BAAR-positivo/cultivo no realizado
- C) BAAR-negativo/cultivo-positivo
- D) BAAR-positivo/cultivo-negativo
- E) BAAR-positivo/cultivo-contaminado
- F) BAAR no realizado/cultivo-positivo

Una vez clasificados los casos por categoría, se calcularon los siguientes indicadores de calidad:

- Aporte del cultivo al diagnóstico
- Porcentaje de muestras BAAR-positivo/cultivo-negativo

También fue calculada la tasa de contaminación (TC) como otro indicador de calidad del cultivo.

Las fórmulas para realizar los cálculos y la interpretación de los resultados fueron las siguientes:

I. Aporte del cultivo al diagnóstico (ACD), con valores aceptables entre 20 y 30% de los casos con confirmación bacteriológica:

$$\text{ACD} = \frac{\text{C}}{\text{A} + \text{B} + \text{C} + \text{D} + \text{E}} \times 100$$

II. Porcentaje de muestras BAAR-positivo/cultivo-negativo, con valores aceptables entre un 2 y 3%.

$$\% \text{BAAR-positivo/cultivo-negativo} = \frac{\text{D}}{\text{A} + \text{B} + \text{C} + \text{D} + \text{E}} \times 100$$

III. Tasa de contaminación, expresada como porcentaje de tubos contaminados entre el total de tubos inoculados, con valores aceptables entre 3 y 5%.

$$\text{TC} = \frac{\text{Tubos contaminados}}{\text{Total de tubos inoculados}} \times 100$$

RESULTADOS

De los 7,590 cultivos de esputo analizados, 4,952 se realizaron en el laboratorio de diagnóstico de micobacterias del CPHEM y 2,638 en el CMHEM de Puerto Padre. Las muestras no útiles para el cultivo fueron 63 (1.3%) y 64 (2.4%), en el CPHEM de Las Tunas y CMHEM de Puerto Padre, respectivamente (Tabla I).

Al calcular los indicadores de calidad del cultivo, pudimos observar que la TC fue de un 4.5% en el CPHEM y del 0.3% en el CMHEM de Puerto Padre. El aporte del cultivo al diagnóstico osciló entre 17.9 y 27.3% en el CPHEM y CMHEM de Puerto Padre, respectivamente. El porcentaje de pacientes BAAR-positivo/cultivo-negativo fue de 7.7% en el CPHEM de Las Tunas y el CMHEM de Puerto Padre no reportó ningún caso (Tabla II).

DISCUSIÓN

La vigilancia de rutina en los laboratorios de cultivo utilizando indicadores de calidad estandarizados permite mantener y mejorar la calidad del diagnóstico de los laboratorios de micobacteriología. El análisis del desempeño del laboratorio comienza con el programa de aseguramiento de la calidad, específicamente el control de calidad interno. Se han elaborado y difundido indicadores que miden la eficacia de los laboratorios que realizan la baciloscopy de esputo; sin embargo, el seguimiento sistemático del rendimiento del cultivo no es muy frecuente. Para el cultivo de micobacterias se han propuesto varios manuales técnicos y documentos, pero no hay un consenso global de cuáles indicadores deben ser medidos.⁹

El control de calidad interno del cultivo debe ser realizado por el responsable del laboratorio. El seguimiento periódico de los resultados permite detectar errores sistemáticos y sostenidos en el tiempo, así como identificar las posibles causas del error, lo cual permitiría realizar las correcciones necesarias cuando se detectan las deficiencias y en consecuencia mejorar la calidad del diagnóstico.^{6,7}

La contaminación cruzada en los laboratorios de cultivo de micobacterias es más común de lo que podemos imaginar.^{10,11} Entre el 0.33 y 16%

Tabla I. Clasificación de las muestras de esputo por categorías.

Categorías	CPHEM Las Tunas		CMHEM Puerto Padre		Total
	No.	%	No.	%	
BAAR-negativo/cultivo-negativo	4,694	94.8	2,618	99.2	7,312
BAAR-negativo/cultivo-positivo	7	0.1	3	0.1	10
BAAR-positivo/cultivo-negativo	3	0.1	0	0	3
BAAR-positivo/cultivo-positivo	25	0.5	8	0.3	33
BAAR-negativo/cultivo-contaminado	219	4.4	9	0.3	228
BAAR-positivo/cultivo-contaminado	4	0.1	0	0	4
BAAR-negativo/cultivo no realizado	114	2.3	0	0	114
BAAR-positivo/cultivo no realizado	0	0	0	0	0
Muestras no útiles	63	1.3	64	2.4	127
Total de muestras procesadas	4,952	100	2,638	100	7,590
Tubos inoculados	9,904		5,276		15,180
Tubos contaminados	446		18		464

de los cultivos reportados como positivos son resultados falsos debido a este error, pero en la mayor parte de los casos el porcentaje alcanza el 3%. Muchas veces resulta difícil detectar la causa de la contaminación porque en ocasiones pueden pasar días e incluso semanas desde que se originó el evento hasta el desarrollo de los cultivos contaminados.¹⁰

La notable capacidad de *M. tuberculosis* de sobrevivir a condiciones adversas es uno de los principales factores que contribuyen a la contaminación cruzada, ya que pueden permanecer viables en equipos y soluciones de trabajo durante tiempo prolongado. La probabilidad de ocurrencia de este tipo de error es mayor cuando existe sobrecarga de trabajo y se procesan muchas muestras por jornada.^{10,12-14}

La mayoría de las muestras clínicas enviadas al laboratorio de cultivo de TB están contaminadas en mayor o menor grado por gérmenes de la flora normal que se reproducen a una gran velocidad y se desarrollarían rápidamente en la superficie

del medio. *M. tuberculosis* es de crecimiento lento, por lo que otros microorganismos utilizarían los nutrientes del medio antes de que pudieran crecer los bacilos. Por esta razón, la mayoría de las muestras deben someterse a procesos de digestión y descontaminación rigurosos que destruyan los desechos orgánicos y elimine la flora indeseable.³

El método de descontaminación de Petroff modificado es uno de los más utilizados internacionalmente, sobre todo en los países de Latinoamérica, se ha demostrado su gran utilidad para el manejo clínico y epidemiológico de la TB. Este método utiliza reactivos que son de fácil obtención, económicos y no son dependientes de insumos ni equipos de una marca determinada.^{6,7}

Para que sobrevivan un número suficiente de bacilos de la TB y se pueda lograr un diagnóstico confirmatorio, no puede evitarse que una proporción de los cultivos se contaminen con otros microorganismos. Las normas internacionales establecen, cuando se utilizan los medios a base de

Tabla II. Resultados de los indicadores de calidad de los cultivos por laboratorio.

Indicadores de calidad del cultivo	CPHEM Las Tunas (%)	CMHEM Puerto Padre (%)	Total (%)
Tasa de contaminación	4.5	0.3	3.1
Aporte del cultivo al diagnóstico	17.9	27.3	20.0
% BAAR-positivo/cultivo-negativo	7.7	0	6.0

huevos como el LJ, que los valores aceptables de tolerancia de contaminación de los cultivos debe oscilar entre el 3 y 4%, si se utiliza el método de Petroff^{3,7} y otros expertos del tema plantean que hasta un 5%;⁶ la tasa de contaminación del laboratorio del CPHEM de Las Tunas presentó valores aceptables. Cuando se emplea una concentración de hidróxido de sodio menor al 4% y/o medios de cultivo líquidos (como los propuestos para los sistemas de lectura automatizada o MGIT), este porcentaje puede llegar hasta el 9%. Por encima del 5% de contaminación, lo cual no sucedió en nuestro estudio, es una señal de alarma que debe ser reportada y analizada por el responsable del laboratorio e investigar las causas que puedan haber provocado la misma para implementar medidas correctivas que disminuyan la contaminación.^{3,6,7}

A nivel internacional se han publicado algunos estudios sobre esta temática. Suzuki *et ál.*, reportó una tasa de contaminación de 6.3% utilizando el sistema de cultivo automatizado MGIT.¹⁵ Pero en esta investigación no fueron calculados los indicadores de calidad del cultivo que fueron utilizados en nuestro estudio.

Por otro lado, es importante destacar que si la tasa de contaminación es inferior al 3%, como lo sucedido en el CMHEM de Puerto Padre (0.3%), también puede traducir un problema en el laboratorio, pues puede estar en relación con un tiempo prolongado de exposición de la muestra al agente descontaminante o que la concentración del verde malaquita en el medio de cultivo sea mayor a lo normalizado. Cuando ocurre esta situación, se pueden eliminar los bacilos que pudieran estar contenidos en la muestra, además de la flora normal del sistema respiratorio, aportando resultados falsos negativos del cultivo.^{3,6,7}

Con el cultivo es posible extender la confirmación del diagnóstico del 20-30% de los casos.^{3,6,7} En nuestro estudio, el aporte del cultivo del laboratorio del CPHEM estuvo alrededor del 20% y en CMHEM de Puerto Padre no superó el 30%; estos valores son aceptables según las normas internacionales. Cuando el aporte del cultivo es mucho mayor del 30%, es necesario verificar si no existieron errores al realizar la lectura de las baciloskopias (falsos negativos) o si se están investigando un porcentaje elevado de casos con

TB poco avanzada, incluyendo a los pacientes pediátricos, lo cual no traduce ningún problema en el laboratorio. Si es mucho menor del 20%, se debe investigar si la descontaminación de las muestras fue muy energética, ya sea por una excesiva concentración del descontaminante y/o por tiempo de exposición prolongado al mismo, o si existió demora excesiva entre la toma y el procesamiento de las muestras, que puede ser letal para las micobacterias.^{3,6}

Las causas mencionadas anteriormente junto a los resultados falsos positivos en la lectura de las baciloskopias, son aspectos importantes que pueden ser la causa del aumento del porcentaje de casos confirmados por baciloskopias positivas con cultivo negativo. Los valores aceptables para este indicador no deben superar el 3%, como sucedió en el laboratorio provincial del CPHEM de Las Tunas (7.7%); creemos, después de realizar un análisis que la demora entre la toma y el procesamiento de las muestras para cultivo, fueron las causas que influyeron en el aumento de este indicador. Por debajo de este valor no traduce dificultades en el laboratorio.

Podemos concluir que los indicadores de calidad del cultivo en el laboratorio del CPHEM de Las Tunas, exceptuando el % BAAR-positivo/cultivo-negativo, y el indicador del aporte del cultivo al diagnóstico en el laboratorio del CMHEM de Puerto Padre, presentaron valores aceptables según las normas. Recomendamos incorporar el cálculo de los indicadores de calidad a la red nacional de laboratorios que realizan cultivo para conocer y evaluar los resultados del trabajo e incorporar la evaluación de la sensibilidad del medio para mejorar el rendimiento y la calidad del diagnóstico de la TB.

REFERENCIAS

1. Moore DF, Guzmán JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:247-254.
2. Laserson KF, Yen NT, Thornton CG, *et ál.* Improved sensitivity of sputum smear microscopy after processing specimens with C18 carboxypropylbetaine to detect acid-fast bacilli: a study of United States-bound immigrants from Vietnam. *J Clin Microbiol* 2005;43: 3460-3462.

-
- Comportamiento de los indicadores de calidad del cultivo
3. Organización Mundial de la Salud. *Servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis*. Parte III: Cultivo. WHO/TB/98.258.
 4. API Consensus Expert Committee. *API TB Consensus Guidelines 2006: Management of pulmonary tuberculosis, extra-pulmonary tuberculosis and tuberculosis in special situations*. J Assoc Physicians India 2006;54:219-234.
 5. De Waar JH, Robledo J. *Conventional diagnostic methods*. In: Palomino JC, Cardoso LS, Ritacco V, editors. *Tuberculosis 2007. From basic science to patient care*. Antwerp, Belgium; 2007.p.401-419.
 6. Organización Panamericana de la Salud. *Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis*. Normas y guía técnica. Parte II. Cultivo. OPS; 2008.
 7. Sequeira MD, Latini O, López B, Simboli N, Barrera L. *Garantía de calidad de los métodos bacteriológicos aplicados al diagnóstico y control del tratamiento de tuberculosis*. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" INER E. Coni./ INEI. DOC. TEC. INER. DyR. N° 10/03. Argentina; 2003.
 8. Marrero A, Carreras L, Valdivia JA, et ál. *Programa Nacional de Control de la Tuberculosis*. Manual de normas y procedimientos. La Habana, Cuba: Ciencias Médicas; 1999.
 9. McCarthy KD, Metchock B, Kanphukiew A, et ál. *Monitoring the performance of mycobacteriology laboratories: a proposal for standardized indicators*. Int J Tuberc Lung Dis 2008;12:1015-1020.
 10. Alonso V, Paul R, Barrera L, Ritacco V. *Falso diagnóstico de tuberculosis por cultivo*. Medicina (B Aires) 2007;67:287-294.
 11. Rodrigues C, Almeida D, Shenai S, Goyal N, Mehta A. *Dedicated decontamination: a necessity to prevent cross contamination in high throughput mycobacteriology laboratories*. Indian J Med Microbiol 2007;25:4-6.
 12. Fitzpatrick L, Braden C, Cronin W, et ál. *Investigation of laboratory cross-contamination of Mycobacterium tuberculosis cultures*. Clin Infect Dis 2004;38:52-54.
 13. Díaz R, Crespo FM, Herrera S, Sevy-Court J, Marrero A, Soolingen D. *Laboratory Cross-Contamination of Mycobacterium tuberculosis during preparation of smears*. Internet J Third World Med 2005;2.
 14. Carroll NM, Richardson M, van Helden PD. *Criteria for identification of cross-contamination of cultures of Mycobacterium tuberculosis in routine microbiology laboratories*. J Clin Microbiol 2003;41:2269; author reply 269-270.
 15. Suzuki K, Higuchi T. *Improvement of routine works and quality control in mycobacterial laboratory*. Kekkaku 2007;82:217-227.

✉ Correspondencia:

Dra. María Rosarys Martínez Romero.
Instituto de Medicina
Tropical "Pedro Kouri". C.P. 11300.
La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba.
Correo electrónico:
rosarys@ipk.sld.cu

271

www.medigraphic.org.mx