

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Evaluación del control de calidad de la baciloscopia en el diagnóstico de la tuberculosis en Cuba

Dra. María Rosarys Martínez Romero,¹ Téc. Misleidis Sardiña Aragón,² Téc. Grechen García,² Dra. Marisol Díaz Almaguer,³ Dra. María J. Llanes Cordero⁴ y Dr. Ernesto Montoro Cardoso⁵

RESUMEN

Se evaluó el diagnóstico de tuberculosis en los laboratorios de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología de Cuba incluido el municipio especial Isla de la Juventud. Se realizó el control de calidad a 4 382 láminas en el período enero-diciembre de 2004, según lo establecido en el Manual de Procedimientos del Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Mostraron buena calidad en la extensión y coloración de Zielh Neelsen 4 003 (91,35 %) láminas. El coeficiente de concordancia global del Laboratorio Nacional de Referencia de Tuberculosis en relación con los laboratorios provinciales fue de 99,79 %. La sensibilidad y especificidad presentaron valores superiores a 99 %. Estos resultados sugieren la calidad del diagnóstico de la baciloscopia de tuberculosis en los laboratorios provinciales y señalan la necesidad de no descuidar las continuas supervisiones, el monitoreo y el reentrenamiento en la técnica de baciloscopia, que sientan las bases para la introducción de los métodos de chequeo a ciegas y panel de láminas dirigidas a perfeccionar la calidad del diagnóstico de tuberculosis en Cuba.

Palabras clave: Tuberculosis, baciloscopia, control de calidad.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa causada por *Mycobacterium tuberculosis*, actualmente considerada un problema de salud en diversos países del mundo, incluidos los de mayor desarrollo económico.^{1,2}

La estrategia DOTS/TAES (directly observed treatment short course/tratamiento acertado estrictamente supervisado), es la forma más eficaz para luchar contra la epidemia de TB. La detección de casos y su diagnóstico, el control de calidad de la baciloscopia de forma regular en la red de laboratorios, la supervisión y formación continuada para garantizar la calidad de los servicios en todo el sistema sanitario, constituyen aspectos fundamentales dentro de esta estrategia.³

La observación directa de bacilos ácido alcohol resistente (BAAR), es la manera más eficaz para

la detección y el diagnóstico de los pacientes con TB pulmonar activa. Los casos con baciloscopia positiva son la fuente de infección de mayor riesgo y su localización temprana permite interrumpir la cadena de transmisión, si de inmediato se inicia el tratamiento terapéutico.⁴

El control de calidad (CC) de la baciloscopia es un sistema diseñado para mejorar la habilidad, eficiencia y el uso de la microscopía, como opción de diagnóstico y monitoreo. Por otra parte, constituye un proceso de supervisión eficaz y sistemática de los resultados del trabajo de los laboratorios y asegura que la información generada por este, sea exacta, fiable y reproducible. Consta de 3 componentes: control de calidad, comprobación de habilidad y perfeccionamiento de la calidad del diagnóstico.^{5,6}

¹ Especialista de I Grado en Microbiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

² Técnica B en Investigaciones y Servicios. IPK

³ Especialista de I Grado en Microbiología. Laboratorio de Microbiología Hospital "Ernesto Guevara". Las Tunas.

⁴ Especialista de I Grado en Epidemiología. Ministerio de Salud Pública.

⁵ Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Titular. IPK.

Las principales actividades de los Programas de Control en países con baja prevalencia de TB, son la detección de casos por baciloscopia y el rescate de un tratamiento efectivo de estos pacientes. Dentro de las tareas fundamentales de los Laboratorios Nacionales de Referencia de Tuberculosis (TB), está el entrenamiento del personal para realizar las baciloscopias de rutina en los laboratorios periféricos, calidad del diagnóstico en la red de laboratorios y vigilancia de la resistencia a las drogas antituberculosas.⁶

Por la importancia epidemiológica que reviste el diagnóstico temprano y certero de la TB, los autores de este trabajo se propusieron evaluar la calidad de la baciloscopia en la red de laboratorios de Cuba.

MÉTODOS

Se realizó el CC a 4 382 láminas de esputo recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia e Investigaciones de Tuberculosis y Micobacteria del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (LNR - IPK) durante el período enero-diciembre de 2004, procedentes de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología (CPHE) de Cuba, incluido el municipio especial Isla de la Juventud. Fueron incluidas 100 % de las láminas positivas diagnosticadas y 10 % de las negativas.

Fueron excluidos del estudio, el laboratorio del CPHE de la provincia de Las Tunas por estar participando en un estudio piloto relacionado con la introducción de un sistema de control de calidad diferente al utilizado en el presente trabajo y el laboratorio del CPHE de la provincia de Guantánamo que no envió láminas para CC en el período evaluado.

A cada lámina se le realizó la relectura según lo establecido en el Manual de Normas y Procedimientos del Programa Nacional de Control de la TB.⁷ La codificación se estableció de acuerdo con el número de bacilos observados en 4 líneas (2 horizontales y 2 verticales):

0 BAAR observados en 4 líneas: Codificación 0.1 – 5 BAAR observados en 4 líneas: el propio número.

6 – 24 BAAR observados en 4 líneas: codificación 6.

+ 25 BAAR observados en 4 líneas: codificación 7.

+ 25 BAAR observados en una línea: codificación 8.

BAAR observados en la mayoría de los campos: codificación 9.

Se definieron las variables siguientes:

Láminas con buena calidad (LBC): las láminas que no presentaron errores de lectura ni errores técnicos.

Errores de lectura (EL): errores detectados por el personal responsable del CC del LNR-IPK al realizar la relectura de las láminas procedentes de los laboratorios provinciales.

Errores técnicos (ET): láminas que presentaron deficiencias en la extensión de la muestra o al realizar la coloración de Ziehl-Neelsen.

Falso positivo alto (FPA): láminas evaluadas como positivas con codificación alta (7-9) por el laboratorio provincial y resultaron negativas por el LNR-IPK.

Falso positivo bajo (FPB): láminas evaluadas como positivas con codificación baja (1-6) por el laboratorio provincial y resultaron negativas por el LNR-IPK.

Falso negativo alto (FNA): láminas evaluadas como negativas por el laboratorio provincial y resultaron positivas altas (7-9) por el LNR-IPK.

Falso negativo bajo (FNB): láminas evaluadas como negativas por el laboratorio provincial y resultaron positivas bajas (1-6) por el LNR-IPK.

Errores de codificación (EC): láminas con diferencias cuantitativas en más de 2 valores de codificación entre el LNR-IPK y el laboratorio provincial.

Para determinar los errores técnicos al realizar la extensión y coloración de la muestra se tuvieron en cuenta:

Características de la extensión: tamaño del frotis en la lámina, grosor de la extensión y homogeneidad de la muestra.

Características de la coloración: presencia o no de cristales o restos de fucsina.

Las láminas donde se detectaron EL, fueron rechequeadas por el personal responsable del CC antes de informar el resultado final.

Fue considerada una tolerancia aceptable hasta 5 % para los FP, 1 % los FN incluidos los resultados

positivos con codificación baja y 5 % para los errores de codificación (Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Dr. Emilio Coni”, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Carlos G. Malbrán”, Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis. Argentina. Garantía de la calidad de los métodos bacteriológicos aplicados al diagnóstico y control de tratamiento de tuberculosis. Argentina, 2000).⁸

Análisis estadístico: se realizó el cálculo de la sensibilidad, especificidad, coeficiente de concordancia, coeficiente de discordancia, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo utilizando el Programa para Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados EPIDAT versión 3.0 (diciembre 2003), con un intervalo de confianza de 95 %. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de Salud (OPS/OMS).

RESULTADOS

Durante el período enero-diciembre de 2004 fueron evaluadas 4 382 láminas, 4 003 (91,35 %) presentaron buena calidad tanto en la extensión como en la coloración de Ziehl Neelsen.

Rechequeo de las láminas: se detectaron 21 (0,48 %) EL, de los cuales 13 (0,3 %) correspondieron a EC, 5 (0,11 %) a FP y 3 (0,07 %) a FN. Al realizar el análisis por provincias, se destacan los resultados obtenidos en Ciudad de La Habana, Matanzas, Granma e Isla de la Juventud donde no se detectaron EL. En el resto de las provincias, los EL oscilaron entre 0,14 y 1,32 %. En las provincias de Pinar del Río, Sancti Spíritus, Camagüey y Holguín, no se encontraron resultados falsos, solo se identificaron EC que estuvieron por debajo de 2 % (tabla 1).

TABLA 1. Resultados del control de calidad de la baciloscopia de tuberculosis por provincias. LNR – IPK. Año 2004

Laboratorio CPHE	Láminas de buena calidad			Errores técnicos				Errores de lectura									
	Total	No.	%	Extensión deficiente		Coloración deficiente		Total	FP		FN		EC		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
Pinar del Río	345	303	87,33	31	8,98	9	2,61	40	11,59	0	0	0	0	2	0,58	2	0,58
Habana	160	115	71,87	36	22,5	7	4,37	43	26,87	1 FPA	0,62	1 FNA	0,62	0	0	2	1,25
Ciudad de La Habana	577	568	98,44	8	1,39	1	0,17	9	1,56	0	0	0	0	0	0	0	0
Matanzas	208	190	91,35	16	7,69	2	0,96	18	8,65	0	0	0	0	0	0	0	0
Villa Clara	518	447	86,29	23	4,44	45	8,69	68	13,13	1 FPB	0,19	0	0	2	0,35	3	0,58
Cienfuegos	284	278	97,89	3	1,06	2	0,70	5	1,76	1 FPB	0,35	0	0	0	0	0	0
Sancti Spíritus	380	319	83,95	47	12,37	9	2,37	56	14,74	0	0	0	0	5	1,32	5	1,32
Ciego de Ávila	220	210	95,45	5	2,27	1	0,45	6	2,73	1 FPA	0,45	1 FNA	0,45	2	0,91	4	1,82
Camagüey	226	212	93,80	6	2,65	7	3,1	13	5,75	0	0	0	0	1	0,44	1	0,44
Holguín	711	682	95,92	16	2,25	12	1,69	28	3,94	0	0	0	0	1	0,14	1	0,14
Granma	150	142	94,67	5	3,33	3	2	8	5,33	0	0	0	0	0	0	0	0
Santiago de Cuba	568	502	88,38	58	10,21	6	1,06	64	11,27	1 FPA	0,18	1 FNA	0,18	0	0	2	0,35
Isla de la Juventud	35	35	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	4 382	4 003	91,35	254	5,80	104	2,37	358	8,17	5	0,11	3	0,07	13	0,3	21	0,48

FP: falso positivo, FN: falso negativo, EC: errores de codificación, FPA: falso positivo alto, FNA: falso negativo alto, FPB: falso positivo bajo.

Calidad de la extensión y coloración de Ziehl Neelsen: de los 358 (8,17 %) errores técnicos encontrados, 254 (5,80 %) correspondieron a deficiencias en la extensión (DE). Las provincias de Pinar del Río, La Habana, Sancti Spíritus y Santiago de Cuba fueron las que presentaron mayor proporción de DE con 31 (8,98 %), 36 (22,5 %), 47 (12,37 %) y 58 (10,2 1%), respectivamente. Las restantes provincias estuvieron por debajo de 8 %. Las deficiencias en la coloración (DC), representaron un porcentaje menor en relación con las DE con un total de 104 (2,37 %), donde Villa Clara resultó ser la provincia en la cual se identificó mayor cantidad de DC con 45 (8,69 %), en el resto de los laboratorios se comportaron por debajo de 5 % (tabla 1).

El coeficiente de concordancia global del LNR-IPK en relación con los laboratorios provinciales fue de 99,79 %, con un índice de Kappa de 0,9910 y un valor de p de 0,0000, lo cual resultó estadísticamente significativo. La sensibilidad y especificidad, el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, presentaron valores superiores a 99 % (tabla 2).

DISCUSIÓN

El CC de la baciloscopia es un componente muy importante dentro los Programas de Control de TB y debe estar adecuadamente implementado y monitoreado. Su función primaria es detectar qué tipo de deficiencias existen en los laboratorios para reconsiderar un entrenamiento adicional del personal y realizar supervisiones periódicas con la finalidad de mejorar la calidad del diagnóstico bacilosκόpico.⁹

En Cuba, en los últimos 4 años, se han evaluado 21 674 láminas de esputo con una discordancia de 0,12 % (datos no publicados, tomados del libro de registro de control de calidad del LNR-IPK). El primer reporte publicado sobre el control de la calidad de las baciloscopias fue realizado por Crespo y otros en 1997, donde la concordancia fue de 94,2 %, menor que la obtenida en el presente trabajo.¹⁰ Esto pudiera estar dado porque esta investigación se efectuó en los laboratorios de referencia provinciales, donde el personal técnico dedicado a realizar las baciloscopia es fijo y periódicamente recibe entrenamientos; y el estudio realizado por Crespo y otros se limitó a la red de laboratorios de diagnóstico de la provincia de Ciudad de La Habana, donde se han presentado dificultades con la estabilidad de personal del laboratorio y la incorporación de técnicos sin la experiencia en la actividad; pero sirvió como punto de partida para futuras investigaciones, como la realizada en este trabajo.

Se debe señalar que en el laboratorio del Centro Municipal de Higiene y Epidemiología de la Isla de la Juventud, no se identificaron errores de lectura ni errores técnicos. La proporción de láminas (35) enviadas fue menor en relación con el total de las láminas enviadas por el resto de los laboratorios provinciales y se piensa que está en correspondencia con la baja densidad poblacional y la extensión territorial del municipio, además la tasa de incidencia de casos durante el año de estudio fue de 4,6;¹¹ evidenciándose la baja tasa de diagnóstico de TB que se realiza en el citado municipio.

La proporción de láminas con buena calidad en la extensión y coloración encontradas, fue mayor que lo descrito por Fujiky y otros en Cebú, Filipinas, donde el porcentaje de láminas con calidad

TABLA 2. Indicadores de calidad de la baciloscopia de tuberculosis. LNR – IPK. Año 2004

Parámetros N = 4 382	VP	VN	FP	FN	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Láminas positivas	499		5		99,40		99,01	
Láminas negativas		3 874		3		99,87		99,62

Intervalo de confianza: 95 % (0,9833 - 0,9965); Índice de Kappa: 0,9910; Valor de p= 0,0000; VP: verdaderos positivos, VN: verdaderos negativos, FP: falsos positivos, FN: falsos negativos, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.

adecuada estuvo por debajo de 90 %.¹² En otro trabajo realizado por Kuzsnier y otros, se reportaron resultados mejores a los obtenidos en esta investigación, y 97 % de frotis con buena calidad.⁴

Las deficiencias en la técnica de coloración de Zielh Neelsen pueden influir en la calidad de la lectura y ser causa de resultados FP y FN. En diversas investigaciones relacionadas con el tema, se ha podido observar que aproximadamente 46 % de FP ha sido relacionado con deficiencias en la coloración, principalmente por la presencia de cristales de fucsina que pueden traer confusión a los microscopistas que no tengan suficiente experiencia para diferenciarlos de los bacilos o por pobre decoloración con el alcohol ácido. Por otra parte, los FN han sido generalmente asociados con extendidos muy finos, tiempo prolongado en el proceso de decoloración de la lámina o un pobre calentamiento de la fucsina.⁴

Otro elemento que puede influir en las diferencias entre las lecturas se refiere a que los BAAR pueden volverse invisibles después de 2-3 semanas bajo condiciones de alta temperatura, humedad y exposición a la luz y ser causa de declaraciones de resultados FP.^{13,14}

La técnica de baciloscopia no es totalmente reproducible aun bajo las mejores condiciones de lectura. Expertos en la temática han planteado que el rango de reproducibilidad puede variar de 93 a 96 %. La concordancia observada en esta investigación fue mayor (99,79 %). Un resultado similar fue reportado en un estudio conducido en Argentina (98,5 %).⁴ Ramarokoto y otros, en Madagascar y León y otros, en Colombia, obtuvieron 94 y 96,3 % de concordancia, respectivamente, valores inferiores a los encontrados aquí.¹⁵⁻¹⁷ La discrepancia observada en este trabajo, se comportó con valores inferiores a 1 %, que es menor a lo reportado en un estudio realizado por Buzingo y otros en Burundi (4,1 % para los FN y 6,94 % para los FP).¹⁴ Los resultados obtenidos en esta investigación pudieran deberse a la baja tasa de incidencia de TB en Cuba (6,6 x 100 000 habitantes, de los cuales 452 casos fueron diagnosticados por baciloscopia durante el período de estudio),¹¹ además en estos países la prevalencia de TB es elevada, por lo que el número de láminas a observar para el CC es superior y existe mayor

probabilidad de encontrar errores en la lectura, también se utilizó el método de recoloración de las láminas antes de la relectura, lo cual no fue realizado en este trabajo.

El manual External Quality Assessment for AFB Smears Microscopy recientemente publicado, sugiere el método de rechequeo a ciegas con previa recoloración de las láminas antes de realizar la reevaluación, como componente del programa de CC, para mejorar la calidad del diagnóstico de esta enfermedad y evitar los falsos resultados. Otro sistema recomendado consiste en realizar panel de láminas a las unidades de salud que no diagnostican con cierta frecuencia baciloscopias positivas.¹⁸ Ambos sistemas están siendo evaluados en un estudio piloto en la provincia de Ciudad de La Habana (municipios Habana Vieja y Mariano) y la provincia Las Tunas (municipios Tunas, Puerto Padre y Majibacoa) durante la ejecución de un proyecto internacional y esto ha permitido identificar los laboratorios que han presentado dificultades para la realización de la baciloscopia. Por otro lado, ha aumentado la motivación del personal del laboratorio para continuar su superación mediante cursos de capacitación y reentrenamiento.

Los resultados obtenidos sugieren la calidad del diagnóstico de la baciloscopia de TB en los laboratorios provinciales y señalan la necesidad de no descuidar las continuas supervisiones, monitoreo, reentrenamiento en la técnica de baciloscopia y sientan las bases para la introducción de los métodos de rechequeo a ciegas y panel de láminas dirigidas a perfeccionar la calidad del diagnóstico de TB en Cuba.

Evaluation of quality control of baciloscopia in tuberculosis diagnosis in Cuba

SUMMARY

This study was aimed at evaluating the diagnosis of tuberculosis in Provincial Hygiene and Epidemiological Centers of the country including special municipality Isle of Youth. The quality control was performed on 4 382 sputum smears from January to December 2004 following the Manual of Procedures of the National Tuberculosis Control program. Good quality in Zielh Neelsen extension and staining was seen in 4 003 smears (91.35%). The overall agreement coefficient between the National Tuberculosis Reference Laboratory and the rest of the provincial laboratories was 99.79%. Sensitivity and specificity figures were over 99%. These results showed the quality of sputum smears microscopy diagnosis at provincial laboratories and the need of

carrying out permanent supervision, monitoring and re-training of staff in acid-fast bacilli test in order to lay down the foundations for the introduction of blind rechecking methods and panel of sputum smears, aimed at improving the tuberculosis diagnosis quality in Cuba.

Key words: Tuberculosis, acid fast bacilli testing, quality control.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Marrero A, Caminero JA, Rodríguez R, Billo NE. Towards elimination of tuberculosis in a low income country: experience of Cuba, 1962-97. *Thorax* 2000;55(1):39-45.
- Raja A. Immunology of tuberculosis. *Indian J Med Res* 2004;120(4):213 -32.
- Organización Mundial de la Salud ¿Qué es la estrategia DOTS/TAES? Ginebra:WHO/CDS/CPC/TB/1998.270; 1999.
- Kusznier GF, Latini OA, Sequeiro MD. Quality assessment of smears microscopy for acid fast bacilli in the Argentine Tuberculosis Laboratory network, 1983-2001. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(10):1234-41.
- Organización Mundial de la Salud. Los Servicios de Laboratorio en el Control de la Tuberculosis. Microscopía II. Ginebra:WHO/TB/1998.258; 1998.
- Rieder HL, Chonde TM, Myking H, Urbanczik R, Kim SI, Laszlo A, et al. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. France: IUATLD; 1998.
- Marrero A, Carreras L, Valdivia JA, Montoro E, González E, Torres R, et al. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Manual de Normas y Procedimientos. La Habana, Cuba: Ed. Ciencias Médicas; 1999.
- Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni". Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS "Carlos G. Malbrán", Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis. Argentina. Microscopia. Argentina:Normas Técnicas; 2000.
- Selvakumar N, Prabhakaran E, Rahman F, Chandu NA, Srinivasan S, Santha T, et al. Blinded rechecking of sputum smears for acid – fast bacilli to ensure the quality and usefulness of restaining smears to assess false positive errors. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7(11):1077.
- Crespo Álvarez FM, Herrero S, Paez M, Paez G, Columbié V, Armas Pérez L et al. Un punto de referencia para el control de calidad de las baciloscopias para la vigilancia de la TB en Ciudad Habana. *Bol IPK* 2001;11(08):60-2.
- Ministerio de Salud Pública. Dirección Nacional de Estadística. La Habana:Anuario Estadístico de Salud; 2004. p.74.
- Fujiki A, Gianco C, Endo S. Quality control of sputum smears examination in Cebú Province. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002;6(1):39-46.
- De Kantor IN, Lazslo A, Vazquez L, Reinerio A, Latini O, Urbanczik R. Periphery to centre quality control of sputum smear microscopy and rapid fading of Ziehl Neelsen staining. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4(9):887-9.
- Buzingo T, Sanders M, Masabo IP, Nyandwi, Van Deun A. Systematic restaining of sputum smears for quality control is useful in Burundi. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7(5):441-2.
- Latini O, Latini MD, Ceconi J. Reproductibilidad de lecturas baciloscópicas. *Rev Arg Tuberc Enf Pulm Salud Pública* 1982;1(1):43-7.
- Ramarokoto H, Cauchoix B, Ranivoarisoa L, Rakotoarisaonina A, Bichat B, Razafinimanana J, et al. Microscopy laboratories for the diagnosis of tuberculosis in Madagascar: quality control. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1996;63(1-2):4-7.
- León CI, Guerrero MI, De Blanco EG, Naranjo N, Camargo D, Orozco LC. Quality of sputum microscopy in the network of tuberculosis bacteriology laboratories in Colombia. *Bol Of Sanit Panam* 1993;115(2):103-10.
- Aziz MA, Ba F, Becx - Bleumink M, Britzel G, Humes R, Lademarco MF, et al. External Quality Assessment for AFB smears Microscopy. USA: Association of Public Health Laboratories; 2002.

Recibido: 20 de mayo de 2006. Aprobado: 25 de agosto de 2006.
Dr. *Ernesto Montoro Cardoso*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: emontoro@ipk.sld.cu