

DIPLOMATURA CONTROL DE CALIDAD PARA LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Estrategias y desarrollo del Control de Calidad Internos en el Laboratorio de Microbiología

BIOQ. ESP. DAVOR N. MARTINOVIC
MP 5728 ME 679
davornm@gmail.com

Control de Calidad Interno

- **Laboratorio:** sistema complejo, múltiples pasos y actores intervenientes. Resultados de calidad
- **Errores:** aleatorios o sistemáticos. Procedimientos innecesarios, fallas terapéuticas, costos excesivos.
- **Programa de control de calidad interno (ISO 15189):**
 - Definir objetivos y estrategias de implementación
 - Definir especificaciones de calidad
 - Seleccionar métodos y equipos adecuados
 - Conocer puntos críticos y limitaciones
 - Capacitar adecuadamente al personal técnico y especializado
 - Evaluar y validar los métodos de trabajo

Control de Calidad Interno en el Laboratorio de Microbiología

- Incluye etapas preanalíticas, analíticas y postanalíticas
- Automatización dificultosa
- Personal adecuadamente capacitado
- Procedimientos estandarizados y documentados (PG/POE/IT)
- Elaborar y revisar anualmente:
 - ✓ Manual de toma, transporte y conservación de muestras biológicas
 - ✓ Criterios de aceptación y rechazo de muestras
 - ✓ Normas de bioseguridad

Evaluación y validación

- **Evaluación:** proceso sistemático y amplio
- Busca comparar métodos y sistemas que cumplan la misma función o similares
- Seleccionar el que mejor se adapte
- Medios de cultivo, colorantes, insumos para PS, equipamiento
- **Validación:** documentación de qué método o equipo funcionan de acuerdo a lo esperado
- Comparación con cepa o patrón de referencia
- **American Type Culture Collection (ATCC)**

Plan de limpieza

- Definido con Dirección, servicio de Control de Infecciones y áreas de maestranza
- Higiene de mesadas y espacios de trabajo
- Circuitos de manipulación de muestras y residuos
- Manejo de líquidos y efluentes
- Retiro y disposición de patógenos
- ¿Reciclaje/recuperación?

Control de Calidad Interno en el Laboratorio de Microbiología

- **1) Control de calidad de insumos y equipamiento**
- 2) Control de calidad de pruebas de identificación y sensibilidad

Control de calidad de la muestra clínica

- Toda la información producida depende de una buena muestra clínica (representativa)
- Toma (elección del momento, técnica, antisepsia), transporte, conservación
- Pérdida de recuperación, contaminación, bioseguridad

- **Manual de toma, transporte y conservación**

 Hospital Rawson	PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTÁNDAR	Ref. HR POE MIC 02.02
TOMA, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO		
Vigente desde: 01/07/2024	Motivo del cambio: Actualización	Sustituye a POE: POE MIC 02.01
Revisión programada: 2026	POEs relacionados:	

Control de calidad de coloraciones

- Herramienta básica para guiar el proceso de diagnóstico microbiológico
- Adecuada a la muestra clínica y al agente infeccioso sospechado
- Abarca insumos comerciales y preparados en el Laboratorio
- Adecuadamente documentado:
 - ✓ Fecha de recepción/preparación, marca, lote y fecha de vencimiento
 - ✓ Condiciones de almacenamiento (T, humedad, luz)
 - ✓ Cumplimentación de las especificaciones de preparación
 - ✓ Controles de esterilidad
 - ✓ Controles de viabilidad y funcionamiento (cepas de referencia)

Control de calidad de coloraciones

- Frecuencia de controles según tipo de coloración y elemento evaluado
- **Cepas de referencia; extendidos**

- Inspección por formación de precipitados o contaminaciones
- Control de dilución

Control de calidad de medios de cultivo

- De vital importancia para una adecuada recuperación microbiana
- Un medio de cultivo es considerado adecuado cuando:
 - ✓ Se observa un suficiente desarrollo de las cepas inoculadas
 - ✓ Características macroscópicas adecuadas
 - ✓ Correctas reacciones de identificación
 - ✓ Controles de esterilidad
 - ✓ Controles de viabilidad y funcionamiento (cepas de referencia)

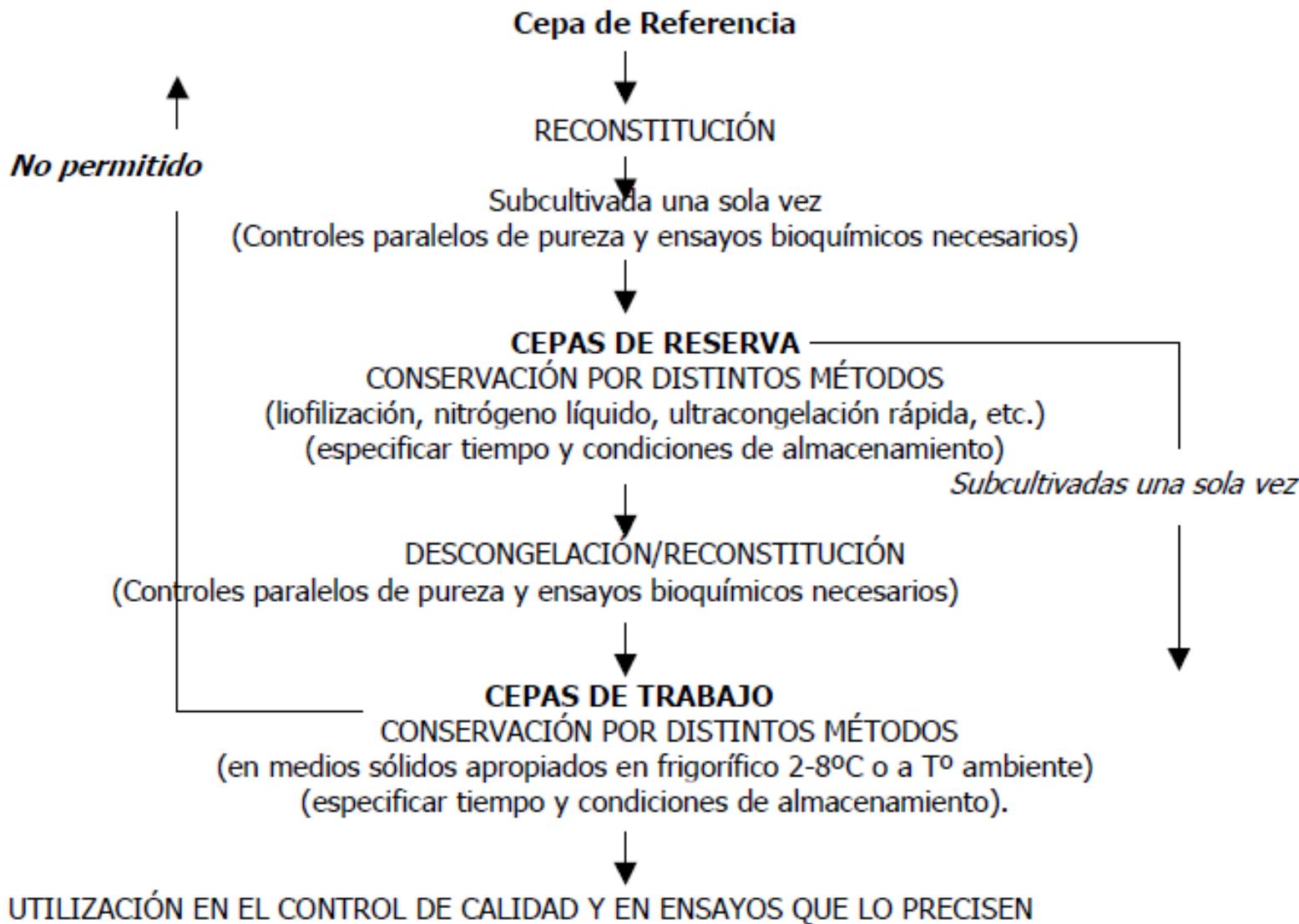
Control de calidad de medios de cultivo

- Medios deshidratados se deben inspeccionar visualmente: cambios en sus características implican descartarlos
- Frecuencia de control según lote, tipo de medio (deshidratado/listo, sólido/líquido) y momento de preparación
- 5% de cada lote controlado 24-48 hs a 37 °C
- Confianza en asegurar esterilidad y viabilidad
- **Cepas de referencia (cultivos frescos, control negativo y positivo)**

Control de calidad de cepas y materiales de referencia

- Cada aislamiento microbiano es, con alta probabilidad, distinto de otros de la misma especie
 - Obtención de las cepas a partir de instituciones nacionales/supranacionales de referencia (ANLIS Malbrán) o proveedores comerciales certificados (ATCC)
-
- Mantenimiento de ceparios de trabajo (subcultivos frescos) y de reserva (liofilizados, ultracongelados)
 - Evitar los numerosos repiques (pérdida de características bioquímicas y/o viabilidad, contaminación)

Esquema de Utilización de Cepas de Referencia



Control de calidad de cepas y materiales de referencia

- Las sustancias de referencia como sueros o materiales genéticos conocidos proporcionan trazabilidad y permiten determinar la performance de distintos métodos
- Deben obtenerse de fuentes certificadas
- El almacenamiento debe ser adecuado asegurando su calidad y preservación
- Idealmente debe fraccionarse en alícuotas listas para su uso

Control de calidad de equipos

- Se debe establecer inicialmente un inventario de equipamiento que consigne:
 - ✓ Nombre del equipo y fabricante
 - ✓ Número de serie
 - ✓ Lugar de funcionamiento
 - ✓ Estado de funcionamiento y plan de mantenimiento
 - ✓ Medidas de protección personal
- Incluye material de vidrio volumétrico, balanzas, centrífugas, termómetros de referencia, microscopios, estufas, autoclaves, cabinas de seguridad, etc.
- Periódicamente y según necesidad se debe calibrar y validar el estado de los equipos

Control de calidad de equipos

- **Norma ISO 15189:2007** establece la exigencia de un programa de validación, verificación y mantenimiento
- Instituciones acreditadas para estas tareas
- Calibración trazable a patrones nacionales o internacionales

Cuadro N° 2
Control del equipo y sus mediciones

Equipo	Procedimiento	Periodo	Límites de Tolerancia	Precauciones
Refrigerador 4°C	Registro temperatura	Diario	+/- 1°C	Limpieza mensual
Congelador -70°C	Registro temperatura	Diario	+/- 1°C	Limpiar y descongelar cada 6 meses
Incubadoras 35, 42 y 56°C	Registro temperatura	Diario	+/- 1°C	Limpieza mensual
Incubadora con CO ₂	Registro temperatura	Diario	36 a 38°C 5 a 10% CO ₂	Limpieza mensual
pH metro	Registro solución calibradora certificada	Cada vez que se use	+/- 0.1	Limpiar cada vez que se use
Autoclave	Controles biológicos	Diario	No-crecimiento	Limpiar cada vez que se use
Microscopio	Limpieza	Cada vez que se use	---	Revisión general cada 6 meses
Centrífuga	Comprobar rpm	Cada seis meses	---	Revisión general cada 12 meses
Cabina de Seguridad Biológica	Registro flujo de aire y luz UV Limpieza	Diario	---	Cambio de filtros cada 3000 horas de funcionamiento

Control de Calidad Interno en el Laboratorio de Microbiología

- 1) Control de calidad de insumos y equipamiento
- **2) Control de calidad de pruebas de identificación y sensibilidad**

Control de calidad de pruebas de identificación

- Abarca insumos comerciales y preparados en el Laboratorio. Plan de limpieza.
- Muy sensible a los errores, lleva a falsas identificaciones
- Adecuadamente documentado:
 - ✓ Fecha de recepción/preparación, marca, lote y fecha de vencimiento del reactivo
 - ✓ Condiciones de almacenamiento (T, humedad, luz)
 - ✓ Cumplimentación de las especificaciones de preparación
 - ✓ Controles de viabilidad y funcionamiento (cepas de referencia)

Control de calidad de pruebas de identificación

- Se debe incluir un control negativo y uno positivo conocidos. Cepas de referencia comerciales o de PCCE.
- Los controles deben realizarse con cultivos frescos
- La frecuencia de monitoreo será diaria o cada vez que se realice la prueba. Ante cambios de lotes/reactivos.
- Cumplimiento estricto de indicaciones de almacenamiento, metodología de uso y tiempos de lectura
- Cualquier situación de no conformidad debe ser documentada y el medio/reactivo no ser utilizado si no se ajusta a los estándares requeridos

Tabla 2. Control de calidad de los reactivos usados en el laboratorio de microbiología y reacciones esperadas

Reactivos	Cepa control	Reacciones esperadas
Kovacs (Indol)	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positiva: anillo fucsia o rojo Negativa: anillo amarillo
Coagulasa	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positiva: formación de coágulo Negativa: no formación de coágulo
Catalasa	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp.	Positiva: formación inmediata y sostenida de burbujas Negativa: no formación de burbujas
Oxidasa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Positiva: color rosado o púrpura Negativa: no cambio de color
Pyr	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Strptococcus agalactiae</i>	Positivo: color rojo cereza oscuro Negativo: color amarillo o naranja
Rojo de metilo	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	Positiva: anillo color rojo Negativa: anillo anaranjado
Voges-proskauer	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	Positiva: color rojo o fucsia Negativa: incoloro

Tomado y modificado de *Procedimiento control de calidad interno analitos cualitativos del área de bacteriología (p. 29-30)* por Gobierno de Chile, Instituto de Salud Pública, 2009 [24]; y *Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas color* por W.C. Winn y colaboradores, 2008, Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana. Copyright© 2008 por Editorial Médica Panamericana [25].

Control de calidad de pruebas de identificación

- En sistemas automatizados (Vitek2C, Phoenix) también ensayar cepas de referencia rutinariamente
- Fundamental controlar la pureza y calidad del inóculo
- Limitaciones en las bases de datos. Complementación manual.



Control de calidad de pruebas de identificación

- Si se utiliza espectrometría de masas con ionización láser mediada por matriz (MALDI-TOF) deben ensayarse cepas específicas (ej. *E. coli* ATCC 8739) o calibradores comerciales
- Es especialmente importante cuidar la calidad del aislamiento, optimizando las condiciones de desarrollo
- Controlar la pureza y estado de conservación de la matriz proteica
- Bases de datos muy amplias pero con limitaciones



Control de calidad de pruebas de sensibilidad

- Importante impacto junto con la identificación correcta en el adecuado manejo de la infección
- Métodos fenotípicos *in vitro*
- Abarca métodos de dilución en agar, macro y micro dilución en caldo, tiras de gradiente (E-test) y difusión con discos (Kirby Bauer)
- Ejecutado por personal técnico calificado y supervisado por especialista
- Numerosos parámetros estandarizados:
 - ✓ Tipo de medio de cultivo (MH, MHS, GC, HTM) y composición (cationes, pH)
 - ✓ Altura del medio de cultivo en la placa
 - ✓ Densidad del inóculo microbiano (0.5 McF)
 - ✓ Carga de los discos o soportes de antimicrobianos
 - ✓ Tiempo, temperatura y atmósfera de incubación

Control de calidad de pruebas de sensibilidad

- Utilización de cepas de referencia provenientes de instituciones nacionales/supranacionales de referencia o proveedores comerciales certificados
- Mantenimiento de ceparios de trabajo (subcultivos frescos) y de reserva (liofilizados, ultracongelados)
- Evitar los numerosos repiques (pérdida de características bioquímicas, de resistencia fenotípica y/o viabilidad)
- Normas estandarizadas **CLSI M100 Ed. 35 (2025)** y **M07 Ed. 11 (2018)**



Control de calidad de pruebas de sensibilidad

- EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- Puntos de corte recomendados para bacterias y levaduras



- WHONET Argentina: Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos
- Servicio Antimicrobiano de la ANLIS Malbrán. Laboratorio Nacional y Regional de Referencia
- Toma recomendaciones de CLSI y EUCAST y elabora protocolos propios
- Organismo consultor de OPS y OMS



Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas
"Dr. Carlos G. Malbrán"



RED WHONET
ARGENTINA
RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



ANLIS
MALBRÁN
INSTITUTO NACIONAL DE ESTUDIOS
SOCIOPOLÍTICOS DE LA SALUD



Ministerio de Salud
Argentina

Control de calidad de pruebas de sensibilidad

- El objetivo es asegurar una lectura interpretada del antibiograma/antifungígrama, según estándares establecidos y correlacionando con métodos de referencia
- Cepas de referencia poseen características bioquímicas bien establecidas, además de mecanismos de resistencia adecuadamente caracterizados
- Como mínimo, el Laboratorio debe contar con:
 - ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922
 - ✓ *Escherichia coli* ATCC 35218
 - ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - ✓ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
 - ✓ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

Table 4A-2. (Continued)

Antimicrobial Agent	Disk Content	QC Organisms and Characteristics								
		<i>Escherichia coli</i> ATCC ^{®b} 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC [®] 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 35218 ^{c,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] 700603 ^{c,d}	<i>Escherichia coli</i> NCTC 13353 ^{c,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-1705 ^{c,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-2814 [™]	<i>Acinetobacter baumannii</i> NCTC 13304 ^{c,d}
		B-lactamase negative	Inducible AmpC	B-lactamase negative, <i>mecA</i> negative	TEM-1	SHV-18 OXA-2 Mutations in OmpK35 and OmpK37	TEM-1	CTX-M-15	KPC-2 SHV	KPC-3 SHV-11 TEM-1
Zone Diameter QC Ranges, mm										

- Cada microorganismo es ensayado frente a múltiples drogas, esperándose halos de inhibición y CIM dentro de rangos de aceptabilidad
- Factores como pH, concentración de cationes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), concentración de timidina pueden alterar el rendimiento de los antimicrobianos
- Las mismas recomendaciones aplican para el control de calidad de las tiras de gradiente (E-test). Interpretación precisa del punto de intersección



Control de calidad de sistemas automatizados

- Mayor rapidez, permiten identificación en simultáneo
- Determinación de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)
- Paneles/tarjetas con gran cantidad de antimicrobianos



Control de calidad de sistemas automatizados

- Se debe ensayar las cepas:
 - ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922
 - ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - ✓ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- Los procedimientos se indican en la guía M07 de CLSI, los puntos de corte en la M100
- La frecuencia de monitoreo debe ser semanal y en cada oportunidad en que se comience un nuevo lote



Aseguramiento de la calidad

- Adecuado y constante control de todas las etapas, desde la recepción de la muestra hasta la emisión del resultado
- Identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías referidas al diagnóstico y cuidado del paciente
- Manual de procedimientos para la evaluación continua de los métodos
- Capacitación y educación permanente en servicio
- Bioseguridad
- Medidas correctivas

Conclusiones

- CCI fundamental para procesos cualitativos y cuantitativos
- Es necesario establecer un programa que guíe y monitoree las actividades
- En Microbiología es tarea ineludible para asegurar la veracidad de resultados
- Complementar con Control de Calidad Externo

Bibliografía

- “Recomendaciones generales para el control de calidad en Microbiología Clínica”. Sociedad Española de Infectología y Microbiología Clínica (SEIMC). 2004.
- “Control de calidad para un Laboratorio de Microbiología”. M. L. Herrera y otro. Revista médica del Hospital Nacional de Niños. Vol. 40, nro 1. Costa Rica. 2005
- “Recomendaciones para la implantación de la normativa de calidad ISO 15189 en el Laboratorio de Microbiología Clínica”. Sociedad Española de Infectología y Microbiología Clínica (SEIMC). 2009.
- “Guía para el uso correcto de los sistemas automatizados para identificación bacteriana y su correspondiente prueba de susceptibilidad”. Organización Panamericana de la Salud. 2011.
- “Una mirada rápida al quehacer diario del laboratorio de microbiología”. G. Morales Parra y otros. Medicina y laboratorio. Vol 23, nro 9-10. Colombia. 2017.
- “M100 - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing”. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Edición 35. 2025.
- “Protocolo de Trabajo de la Red WHONET Argentina”. ANLIS Malbrán. 2025

Muchas gracias por su atención

Bioq. Esp. Davor N. Martinovic

M.P. 5728 M.E. 679

davornm@gmail.com