

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic
Comitè d'Homologació de Dades i Procediments¹

Directrius per al control intern de la qualitat en microbiologia clínica Part 1: Bacteriologia i micologia ²

Versió 2000

Preparat per:

*M.A Bosch i Ferrer³, I. Calvet i Combelles⁴, N. Miserachs i Busqué⁵,
G. Trujillo i Isern⁶*

0 INTRODUCCIÓ

El control intern de la qualitat en el laboratori de microbiologia clínica consisteix en un conjunt d'operacions realitzades pel personal que hi treballa per comprovar el correcte funcionament dels medis de cultiu i dels reactius amb la finalitat d'assegurar uns resultats correctes de l'aïllament i identificació dels microorganismes i de l'antibiograma. El laboratori de microbiologia clínica ha de detectar qualsevol error, analitzar-lo i corregir-lo.

1 OBJECTE I CAMP D'APLICACIÓ

L'objecte d'aquest document és proporcionar als laboratoris clínics unes directrius per facilitar el control intern de la qualitat en bacteriologia i micologia clíniques.

El camp d'aplicació abasta tant els productes com els processos, és a dir, els medis de cultiu, els reactius, les identifications, els antibiogrames bacteriològics i micològics, i les tincions.

2 DEFINICIONS

A efectes d'aquest document s'apliquen les definicions següents:

2.1 antibiograma: determinació de la sensibilitat dels bacteris als antibiòtics

2.2 escala de Mac Farland: terbolesa d'una suspensió de concentració creixent de bacteris

NOTA: El valor de 0,5 de l'escala de Mac Farland correspon a la terbolesa d'una suspensió que conté 10^{11} entitats formadores de

colònies per litre. La terbolesa de la suspensió es mesura per turbidimetria.

2.3 estoc de referència: conjunt de soques obtingudes per sembra d'una única soca de referència

NOTA: Per treballar s'utilitzen subcultius de l'estoc de referència.

2.4 instrucció de treball: document que descriu de forma concreta com es duen a terme el conjunt d'operacions que cal fer en cada procés o lloc de treball

2.5 lot d'un medi de cultiu: conjunt definit d'un medi de cultiu homogeni en quant a tipus, preparació i qualitat, preparat en un mateix període de temps i al que se li ha assignat un número d'identificació

NOTA: Cada lot de medi de cultiu s'ha de sotmetre a un control intern de la qualitat.

2.6 medi de cultiu: compost líquid, semisòlid o sòlid, que conté components naturals o sintètics, utilitzat per al creixement o la conservació de microorganismes

2.7 microorganisme: organisme que no pot ésser observat si no és amb l'ajut d'un microscopi

NOTA: En aquest document amb aquest terme només s'inclou els bacteris i els fongs microscòpics.

2.8 registre: document que proporciona evidències d'activitats realitzades o de resultats obtinguts

2.9 soca de control: microorganisme utilitzat per avaluar les característiques funcionals microbianes dels medis de cultiu

2.10 soca de referència: microorganisme definit al menys a nivell de gènere i espècie, catalogat i descrit segons les seves característiques

NOTA: Les soques de referència esmentades en aquest document són les de l'*American Type Culture Collection* (ATCC; <<http://www.atcc.org>>).

2.11 subcultiu: cultiu obtingut de la sembra de microorganismes aïllats en un cultiu primari

3 MEDIS DE CULTIU

Els medis de cultiu s'han de controlar amb soques de control ben caracteritzades pel propi laboratori o amb soques de control comercials. Cal controlar l'esterilitat, l'idoneïtat per al creixement microbià, així com la selectivitat o capacitat inhibidora i les característiques bioquímiques.

3.1 Medis de cultiu preparats per l'usuari.

Cal controlar cada lot de medi de cultiu preparat per l'usuari i registrar la data de preparació, el número de lot, la quantitat, el mètode d'esterilització, el pH, la

data de caducitat i el nom de qui l'ha preparat.

Per a lots que no sobrepassin 100 plaques o tubs, les proves d'esterilitat es realitzaran amb un 5% de cada lot; per a lots més grans s'empraran 10 plaques o tubs. En ambdós casos s'incubaran durant 48 h a la temperatura a que han de ser utilitzats i després 48 h a temperatura ambient.

Es comprovarà l'aparença del medi. S'ha de rebutjar tot medi que presenti signes de deshidratació, terbolesa o contaminació.

3.1.1 Temps de caducitat dels medis de cultiu preparats per l'usuari

Diferents factors poden afectar al bon estat dels medis de cultiu. Uns venen determinats per les condicions al moment de la preparació, com ara la utilització de sang de més de 5 dies, l'addició a més de 50°C de sang o altres ingredients làbils al calor, un volum inadequat de medi en els tubs o plaques o el sobreescalfament al moment de la esterilització. Altres depenen de les condicions d'emmagatzematge, com ara una temperatura incorrecte, la sobreexposició a la llum, o la conservació en bosses obertes.

3.1.1.1 Temps de caducitat per a plaques guardades en bosses de plàstic tancat a (2-8) °C (10 plaques per bossa):

- 20 setmanes per a plaques que continguin entre 25 i 40 g de medi de cultiu;
- 6 setmanes per a plaques de 150 mm amb 18 a 20 g dels medis següents: agar amb sang, medis de cultiu amb suplementes estèrils, agar amb xocolata, agar de Mueller-Hinton;
- 12 setmanes per a medis de cultiu amb suplementes estèrils: agar amb sang, quan la sang no és d'ovella, agar amb sang d'ovella per a cultius d'anaerobis, agar amb sang d'ovella per a aïllaments selectius;
- 8 setmanes per agar selectiu per *Brucella* spp., agar amb sang de conill i medi selectiu per *Campylobacter* spp.

3.1.1.2 Temps de caducitat per a tubs amb tap, guardats a (2-8) °C

- 18 mesos per als medis de cultiu amb brou i medis de cultiu sòlids sense suplementes estèrils;
- 12 mesos per als medis de cultiu amb brou i medis de cultiu sòlids amb suplementes estèrils;
- 6 mesos per als medis de cultiu sòlids amb sang o sèrum.

3.1.2 Comprovació del creixement dels microorganismes en els medis de cultiu preparats per l'usuari o medis comercials dels que no es té documentació escrita referent als controls de la qualitat als que han estat sotmesos.

L'inòcul utilitzat és una suspensió de 3 a 5 colònies de la soca a provar en 1 o 2

mL de brou de tripticasa de soja a una terbolesa de 0,5 unitats de l'escala de McFarland, que equival a una concentració d'entitats formadores de colònies de 10^{11} /L.

La capacitat nutritiva d'un medi de cultiu s'avalua sembrant una dilució de l'inòcul al 1:100 en NaCl 0,15 mol/L o aigua desionitzada estèrils, i sembrant-ne 0,01 mL per aconseguir un creixement de 10^4 entitats formadores de colònies per placa. La capacitat inhibidora d'un medi de cultiu selectiu s'avalua sembrant 0,01 mL d'una dilució al 1:10 del inòcul en NaCl 0,15 mol/L o aigua desionitzada estèrils per aconseguir un creixement de 10^5 entitats formadores de colònies per placa. Una vegada sembrades les plaques s'incuben a les condicions habituals.

A la taula 1 es mostren les soques recomanades per al control dels medis de cultiu.

3.2 Medis de cultiu comercials

Per als medis de cultiu comercials no és necessari comprovar si el fabricant realitza el control de la qualitat. No obstant això, el fabricant ha d'incloure un document que en certifiqui la qualitat i el laboratori ha de registrar aquesta informació.

4 REACTIUS I ANTISÈRUMS

Els antisèrums i els reactius es controlaran a l'inici de cada lot segons les recomanacions dels fabricants, i durant el seu ús una vegada al mes, com a mínim. Si són utilitzats per identificar s'han de provar amb un microorganisme que doni una reacció positiva i un altre que doni una reacció negativa.

Els reactius que es fan servir ordinàriament, com ara els utilitzats per les proves de la catalasa, la coagulasa, l'oxidasa o la β -lactamasa, s'han de controlar diàriament. Altres, com els discs amb bacitracina, optoquina, ONPG (galactòsid d'ortonitrofenil), o els que contenen els factors de creixement per a *Haemophilus* spp.: X (corresponent a hemina), V (corresponent a NAD), s'han de controlar setmanalment.

Els reactius que es fan servir per identificar micobacteris o fongs, s'han de controlar amb soques de control que donin reaccions positiva i negativa cada vegada que s'utilitzen. Vegeu la Taula 2.

5 TINCIONS

Totes les solucions colorants, ja siguin comercials o de preparació pròpia, s'han de controlar.

Les tincions de Gram, Kinyoun i Ziehl-Neelsen s'han de controlar

setmanalment. Les tincions de fluorescència , cada vegada que s'utilitzen. Vegeu la Taula 3.

6 ANTIBIOGRAMES

El control intern de la qualitat per a l'antibiograma consisteix en aplicar-lo a una soca de control de la que es coneix la sensibilitat enfront dels antibiòtics. El resultat serà correcte si també ho són el medi de cultiu emprat, els antibiòtics i la lectura del grau d'inhibició del creixement.

Més endavant s'indiquen les soques de control que s'utilitzen tant per al mètode de difusió com per al mètode de dilució.

Per a cada soca de control es segueix el mateix procediment i s'utilitzen els mateixos antibiòtics que per a les soques aïllades de mostres de pacients.

Per al control de la qualitat de l'antibiograma per al mètode de dilució, cal afegir una placa o tub amb medi, sense inocular com a material de control d'esterilitat.

A més, cal afegir una placa o tub sense antibiòtic per controlar el creixement correcte, i també cal controlar la puresa de l'inòcul sembrant-ne una placa que s'incuba 18 hores.

Les soques de control es conserven sembrades en agar amb tripticasa de soja o en agar amb xocolata si són més exigents, a (4-8) °C i es subcultiven cada setmana per assegurar-ne la conservació. Si es poden congelar o liofilitzar, es poden conservar més temps.

Per fer un antibiograma amb una de les soques de control, cal primer fer-ne una sembra en placa d'agar per obtenir colònies ben aïllades i recents.

6.1 Mètode de difusió en disc

Es farà amb les següents soques:

Escherichia coli ATCC 35218

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Haemophilus influenzae ATCC 49247 o ATCC 49766

Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226

Streptococcus pneumoniae ATCC 49619

Si més d'un halo d'inhibició de 3 proves consecutives surt fora dels intervals permesos s'ha de revisar el procediment.

Freqüència dels controls:

El control s'ha de fer cada dia que es fa un antibiograma. Ara bé, si el laboratori té constància escrita que durant 30 dies consecutius els resultats han estat correctes, pot fer-los setmanalment. Tot i així, es obligat fer un control de la qualitat de l'antibiograma cada vegada que es comença a utilitzar un lot nou d'antibiòtics.

Si es fa setmanalment i un resultat està fora de control, s'haurà de tornar a fer diàriament fins que es resolgui el problema i s'en documentin els resultats.

El diàmetre dels halos d'inhibició de referència per catalogar la sensibilitat en una de les tres categories: sensible, resistent o intermedi són els publicats al document del Comitè Nacional de Normes de Laboratori Clínic dels Estats Units (<<http://www.nccls.org>>).

6.2 Mètode de dilució

Es farà amb les següents soques:

Escherichia coli ATCC 35218
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
Staphylococcus aureus ATCC 29213
Enterococcus faecalis ATCC 29212
Haemophilus influenzae ATCC 49247 o ATCC 49766
Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619

Dos o més resultats consecutius fora de l'interval recomanat en 20 controls consecutius obliga a revisar el procediment.

Freqüència dels controls:

El control s'ha de fer cada dia que es fa un antibiograma, però pot fer-se setmanalment sempre i quan el laboratori tingui documentació escrita que demostrï uns bons resultats durant 30 dies consecutius.

Ineludiblement cal fer-lo cada vegada que es comença a utilitzar un nou lot de tubs o de plaques de dilució.

Si es fa un cop a la setmana i hi ha un resultat fora de control, s'haurà de tornar a fer diàriament fins que es resolgui el problema i se'n documentin els resultats.

La lectura dels resultats es contrastarà amb la realitzada per algú més expert i no es pot acceptar una diferència superior a ± 1 dilució.

Els procediment i els intervals de les concentracions mínimes inhibitories són els recomenats pel Comitè Nacional de Normes de Laboratori Clínic dels Estats Units.

8 ANNEX

MANTENIMENT DE LES SOQUES DE CONTROL

Les soques de control utilitzades poden ser procedents de mostres de pacients, soques comercials ben caracteritzades o soques de l'*American Type Culture Collection*. Es poden utilitzar durant més o menys temps atenent a les condicions de conservació.

Si es poden liofilitzar o congelar, es poden utilitzar per un període superior a 1 any. Per congelar una soca, cal sembrar-la en agar amb sang o en brou de tripticasa de soja, als que s'haurà d'afegit 15% de glicerol, en tubs de plàstic o de vidre, que portaran escrits la data de congelació i el codi del microorganisme. La congelació s'ha de fer com a mínim a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ si es vol conservar 12 mesos i a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ si es vol conservar indefinidament. Una soca de control descongelada no es pot tornar a congelar.

Per recuperar una soca de control prèviament congelada, només cal fer un subcultiu en medi sòlid després de descongelar-la. Una soca de control conservada per congelació només es pot subcultivar dues vegades.

Una vegada a l'any caldrà comprovar la viabilitat de les soques de control conservades indefinidament.

Si no es possible liofilitzar o congelar les soques de control, sembrades en agar de tripticasa de soja a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ es poden conservar fins a sis mesos. Per a bacteris més exigents, com ara *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., cal afegir al medi 1 mL de sèrum de cavall. Els bacteris anaerobis es conserven sembrats en un medi de brou de carn sense glucosa, i es guarden a temperatura ambient.

Haemophilus spp, es conserva dues setmanes sembrat en tub inclinat d'agar amb xocolata.

La recuperació de les soques es fa subcultivant-les sobre medi sòlid.

TAULA 1. SOQUES RECOMANADES PER AL CONTROL DE MEDIS DE CULTIU

MEDI	MICROORGANISME	RESULTAT
Agar amb sang	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Creixement Creixement Inhibició
Medi selectiu per a <i>Campylobacter</i> spp.	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Staphylococcus</i>	Creixement Inhibició

	<i>epidermidis</i> <i>Escherichia coli</i>	Inhibició parcial
Agar amb xocolata	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Creixement Creixement
Medi de Thayer-Martin	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Neisseria sicca</i>	Creixement Inhibició Inhibició Inhibició Inhibició
Agar selectiu per a <i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides fragilis</i>	Creixement Inhibició Inhibició Inhibició
Brou de carn picada	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacteroides fragilis</i>	Creixement Creixement
Agar amb bilis esculina	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Ennegriment del medi Medi no ennegrit
Agar selectiu per a <i>Gardnerella</i> spp.	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Creixement Inhibició
Agar de Hektoen	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Creixement Creixement Inhibició parcial Inhibició parcial
Agar de MacConkey	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Creixement Creixement Creixement Inhibició
Agar per a proves de motilitat / indol / lisina	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Motilitat+ Indol+ Lisina- Motilitat- Indol- Lisina+
Agar per a proves de motilitat / indol / ornitina	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Motilitat+ Indol+ Ornitina+ Motilitat- Indol- Ornitina-
Agar selectiu per a <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>E. nterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>	Colònia incolora, centre negre Colònia incolora Inhibició Inhibició o color rosa
Brou de selenit	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Shigella sonnei</i>	Creixement Inhibició parcial Creixement

Agar amb citrat	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	Creixement blau Cap canvi de color
Brou de tioglicolat	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacteroides fragilis</i>	Creixement Creixement
Brou de tioglicolat amb vitamina K i hemina	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium novyi</i> <i>Bacteroides levii</i> <i>Bacteroides vulgatus</i>	Creixement Creixement Creixement Creixement
Brou amb triple sucre i ferro (TSI)	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alcali / Àcid-SH ₂ - gas Àcid / Àcid -gas Alcali / Alcali
Brou amb urea	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Color rosa Cap canvi de color
Agar amb xilosa, lisina i desoxicolat (XLD)	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Salmonella flexneri</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus faecalis</i>	Col. vermella - centre negre Colonia vermella Colonia groga Inhibició
Agar amb CIN	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Colònies centre vermell Inhibició Inhibició Inhibició Inhibició
Medi de Lowenstein-Jensen	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> <i>Mycobacterium fortuitum</i> <i>Mycobacterium intracellulare</i> <i>Escherichia coli</i>	Creixement Creixement Creixement Creixement Inhibició
Medi selectiu micològic amb ciclohexamida i cloranfenicol	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Escherichia coli</i>	Creixement Inhibició parcial Inhibició parcial Inhibició
Agar de Sabouraud amb dextrosa	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Candida albicans</i> <i>Escherichia coli</i>	Creixement Creixement Inhibició
Agar amb eosina i blau de metilè (EMB)	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>	Creixement Inhibició Creixement

Agar de Chapman	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Creixement (grogues) Creixement (vermelles) Inhibició parcial
Agar CLED	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus vulgaris</i>	Creixement (groc fort) Creixement (groc) Creixement
Agar de Todd Hewitt	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Creixement Creixement
Brou / Agar amb tripticasa de soja	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Creixement Creixement Creixement
Medi per oxidació o fermentació de glucosa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Moraxella osloensis</i>	Oxidació Oxidació, fermentació Cap canvi

TAULA 2. SOQUES RECOMANADES PER EL CONTROL DE REACTIUS

TEST	MICROORGANISME	RESULTAT
Resistència a la bacitracina	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	Zona d'inhibició Cap zona d'inhibició
Prova de la catalasa	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	Positiu (bombolles) Negatiu
Prova de la coagulasa	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positiu Negatiu
Prova de l'ONPG	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	Positiu (groc) Negatiu
Sensibilitat a l'optoquina	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Zona d'inhibició >16 Cap zona d'inhibició
Prova de l'oxidasa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Positiu (blau) Negatiu
Discs amb factors X,V,XV	<i>Haemophilus influenzae</i>	Creixement al voltant dels factors XV i V
Detecció de βlactamasa	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Positiu (vermell) Negatiu

TAULA 3. SOQUES RECOMANADES PER EL CONTROL DE LES TINCIONS

TINCIÓ	MICROORGANISME	RESULTAT
Gram	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Bacils gramnegatius Bacils grampositius
Kinyoun	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Escherichia coli</i>	Bacils de color rosa Bacils de color blau
Ziehl-Neelsen	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Escherichia coli</i>	Bacils de color rosa Bacils de color blau
Taronja d'acridina	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Bacils fluorescents Cocs fluorescents
Auramina	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Bacils fluorescents

Bibliografia

Isenberg HD, dir. Clinical Microbiology Procedures Handbook Microbiology. Washington: American Society for Clinical microbiology; 1992.

Isenberg HD, dir. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington: American Society for Microbiology; 1998.

National Committee for Clinical laboratory Standards. Quality Assurance for Commercially prepared microbiological Culture Media. Approved Standard M22-A2. Villanova: NCCLS; 1996.

National Committee for Clinical laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. Approved Standard M2-A6. Villanova: NCCLS; 1997.

National Committee for Clinical laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-44. Villanova: NCCLS; 1997.

National Committee for Clinical laboratory standards. Performance Standards for Antimicrobial susceptibility testing. Eight Informational Supplement M100-S8. Villanova: NCCLS; 1998.

¹ Membres del Comitè durant la preparació d'aquest document: M.À. Bosch i Ferrer, I. Calvet i Combelles, T. Carrera i Font, D. Dot i Bach, M.D. Fernández i Delclós, X. Fuentes i Arderiu (coordinador), M. Fusté i Ventosa, J.I. Hornos i Vila, J. Miró i Balagué, N. Miserachs i Busqué, J. Nicolau i Costa, G. Trujillo i Isern, M.À. Vernetta i Porta, J.L. Vives i Corrons.

² Citació recomanada per a aquest document: Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic. Directrius per al control intern de la qualitat en microbiologia clínica Part 1: Bacteriologia i micologia. *In vitro veritas* 2000; 1, art. 4 <<http://www.acclc.cat>>

³ Consorci del Laboratori de l'Anoia, Igualada.

- ⁴ Laboratori Clínic Barcelonès Nord, DAP Badalona i Sant Adrià, Badalona.
- ⁵ General Lab. Barcelona.
- ⁶ Laboratori Clínic Bages, DAP Bages-Bergadà,-Solsonès, Manresa.