

MINISTERIO DE SALUD

**LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA EL
DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA
TUBERCULOSIS POR MICROSCOPIA DIRECTA**



San Salvador, Febrero 2016

Ministerio de Salud
Viceministerio de Políticas de Salud
Dirección de Regulación y Legislación en Salud
Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias

LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS POR MICROSCOPIA DIRECTA

El Salvador, Febrero 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA

2016. Ministerio de Salud

Todos los derechos reservados. Está permitida la reproducción parcial o total de esta obra, siempre que se cite la fuente y que no sea para fines de lucro.

Es responsabilidad de los autores técnicos de este documento, tanto su contenido como los cuadros, diagramas e imágenes.

La documentación oficial del Ministerio de Salud puede ser consultada a través de:

<http://www.salud.gob.sv/institucion/area-interna/centro-virtual-de-docum>

Normas, Manuales y Lineamientos.

Tiraje: N° de ejemplares.

Edición y Distribución

Ministerio de Salud

Calle Arce No. 827, San Salvador. Teléfono: 2591-7000.

Página oficial: www.salud.gob.sv

Diseño de Proyecto Gráfico:

Diagramación: Imprenta

Impreso en El Salvador por Imprenta

El Salvador. Ministerio de Salud. Viceministerio de Políticas de Salud. Viceministerio de Servicios de Salud. Dirección de Regulación y Legislación en Salud. Dirección de Apoyo a la Gestión y Programación Sanitaria. “**Lineamientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis por Microscopia Directa**”. 2a. Edición. San Salvador. El Salvador, C.A.

1. Ministerio de Salud.

AUTORIDADES

Dra. Elvia Violeta Menjívar Escalante
Ministra de Salud

Dr. Julio Oscar Robles Ticas
Viceministro de Servicios Salud

Dr. Eduardo Antonio Espinoza Fiallos
Viceministro de Políticas de Salud

Equipo Técnico

Nombre	Cargo
Dr. Julio Garay Ramos	Coordinador del Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias.
Lic. René Guevara Hernández	Coordinador de Laboratorio Clínico, Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias.
Licda. Margarita Ramírez Lemus	Encargada de Sección de Tuberculosis, Laboratorio Nacional de Referencia.
Lic. José Nelson Linares Rosales	Profesional en Laboratorio Clínico, Sección de Tuberculosis, Laboratorio Nacional de Referencia.
Lic. Luis Francisco López Guzman Lic. Ernesto Villalobos Dra. Patricia de Muñoz	Dirección de Regulación y Legislación en Salud

Comité Consultivo

Nombre	Cargo
Lic. Herla Moreira	Responsable de control de calidad de baciloscopía. Región Oriental de Salud.
Lic. Ena Ochoa	Responsable de control de calidad de baciloscopía. Región Occidental de Salud.
Lic. Obelinda Cerritos	Profesional de laboratorio clínico. Hospital Nacional de Chalatenango.
Lic. Rosa Amelia López	Jefe de Laboratorio Clínico, Primer Nivel de Atención, UCSF Monserrat. Región Metropolitana de Salud.
Lic. Ana Gloria Martínez Santos	Profesional de Laboratorio Clínico, Primer Nivel de Atención, UCSF Santiago Nonualco. Región Paracentral de Salud.
Lic. Claudia Yanira Escobar Rosa	Unidad Médica San Jacinto. Instituto Salvadoreño del Seguro Social.

Indice

I. Introducción	6
II. Objetivos	7
III. Base Legal	7
IV. Ámbito de aplicación	8
V. Desarrollo del Contenido Técnico: Marco Conceptual Funciones de los laboratorios clínicos	8
VI. Toma de muestras	10
Otros tipos de muestras	10
Recepción, conservación y transporte de las muestras	10
VII. Otros tipos de muestras	11
VIII. Recepción, conservación y transporte de las muestras	15
IX. Equipos, materiales y reactivos	17
X. Lugar de trabajo y materiales	20
XI. Preparación del extendido	22
XII. Coloración	26
-Tinción de Ziehl Neelsen	28
XIII. Examen microscópico	31
XIV. Bioseguridad	35
XV. Supervisión y control de calidad	39
XVI. Sistema de Registro	45
Disposiciones generales	50
Anexos	51
Abreviaturas y Siglas	59
Bibliografía	60

I. Introducción.

La Reforma de Salud, iniciada en 2009 y profundizada en el primer año del segundo gobierno del cambio, responde al imperativo de garantizar a la población el derecho humano a la salud y trabaja en todas sus áreas para cumplir con equidad y calidad este cometido, con un enfoque de determinación social de la salud. En ese contexto el Ministerio de Salud, implementa la actualización de los instrumentos técnicos jurídicos que permitan potenciar el trabajo y estandarizar las técnicas que el personal de salud desarrolla con el fin de mejorar la calidad del servicio brindada a la población .

Uno de los métodos diagnósticos más importantes en la prevención y control de la tuberculosis, es la realización de baciloscopía por medio de la coloración de Ziehl Neelsen, que permite la visualización del bacilo ácido alcohol resistente y en países con alta carga de tuberculosis como El Salvador, puede considerarse que se está ante la bacteria causante de la enfermedad tuberculosa.

Los presentes Lineamientos técnicos establecen las disposiciones necesarias para la realización y procesamiento de baciloscopías; se detallan los procedimientos para garantizar la calidad y las consideraciones mínimas en control de infecciones en los laboratorios que procesan muestras de esputo. Además se establece el control, vigilancia y monitoreo del diagnóstico de la tuberculosis por microscopia directa. También permite estandarizar en los diferentes niveles de atención, la técnica utilizada para la realización de la baciloscopía, la cual debe ser aplicada por el personal de laboratorio clínico en los establecimientos de las Redes Integrales e Integradas de Servicios de Salud, en adelante RISS.

II. Objetivos

Objetivo general

Establecer los criterios estandarizados para la realización de baciloscopías por el método de Ziehl Neelsen, utilizado en los laboratorios clínicos de las RIISS, a fin de contribuir al diagnóstico, control y tratamiento oportuno de la tuberculosis.

Objetivos específicos

1. Proporcionar al personal de laboratorio clínico los criterios técnicos administrativos que establezcan los procedimientos para la realización de las baciloscopías con estándares de calidad.
2. Estandarizar el reporte de baciloscopías y su notificación oportuna en los diferentes niveles de atención.
3. Fortalecer el cumplimiento de la normativa vigente de bioseguridad en el manejo y proceso de las muestras como medidas de control de infecciones para la protección del personal de salud y del medio ambiente.

III. Base Legal.

1. Que de acuerdo a los Artículos 149, 150, 151 y 152 del Código de Salud, el Ministerio de Salud, deberá dictar normas para el control de la tuberculosis, así como acordará el establecimiento de acciones integradas, con el objeto de prevenir la tuberculosis, su diagnóstico, localización, el adecuado tratamiento, control y rehabilitación de los enfermos.

2. Que por parte del Ministerio de Salud, en noviembre de 2008, se emitió el Manual de Procedimientos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis por microscopía directa, el cual requiere de actualización, dados los avances científicos en materia de diagnóstico.
3. Que de conformidad a la Política Nacional de Salud 2009-2014, en su línea de acción número 8.2 especifica que el Sistema Nacional de Salud garantizará el derecho de la población a la atención integral a la salud mediante actividades organizadas en planes y programas orientados de acuerdo a criterios poblacionales, vulnerabilidad, riesgo, morbilidad, mortalidad, solidaridad y equidad.

IV. Ámbito de aplicación.

Están sujetos al cumplimiento de los presentes Lineamientos técnicos, el personal de los laboratorios clínicos de los establecimientos de las RIISS y del Sistema Nacional de Salud.

V. Desarrollo del Contenido Técnico

Marco Conceptual.

La baciloscopía es el examen que se realiza para la detección del bacilo de la tuberculosis en adelante TB; se utiliza en los casos infecciosos, para evaluar la mejoría clínica del paciente, hasta su curación o detectar un posible fracaso al tratamiento; sin embargo para lograr la curación, se hace necesario realizar el diagnóstico, por lo que se han utilizado diferentes métodos: principalmente la baciloscopía, cultivos en medios líquidos y sólidos, además de las pruebas moleculares entre ellas Xpert MTB/RIF, que se empezó a utilizar hace aproximadamente tres años.

Si se considera el total de casos con diagnóstico de TB pulmonar confirmados bacteriológicamente, la baciloscopía detecta del 70 al 80 % de los casos, por lo que es recomendada en los países con escasos recursos económicos.

El hallazgo de bacilos ácido alcohol resistente, en adelante BAAR, es la primera evidencia de presencia de micobacterias en una muestra de esputo. La característica del ácido-alcohol resistencia se debe al alto contenido lipídico de la pared bacteriana, que después de teñir resiste la decoloración con ácidos y álcalis, esta propiedad no se pierde cuando el bacilo muere. En la técnica de Ziehl-Neelsen, los BAAR se observan como pequeños bastones curvados, de color rojo sobre un fondo de contraste azul. Una baciloscopia positiva aporta al clínico la confirmación del diagnóstico para iniciar el tratamiento inmediato, cortando así la cadena de transmisión.

La no demostración de BAAR a través de la baciloscopia no descarta el diagnóstico, pero la demostración de BAAR por la baciloscopia depende de la extensión de la enfermedad, de la calidad de la muestra y del tiempo de observación: la sensibilidad es elevada (80% al 90%) en tuberculosis muy avanzadas, con patrón cavitario en la radiografía de tórax, pero decrece claramente en las formas que unicamente tiene infiltrados (50% al 80%), y más en las formas nodulares (<50%).

La especificidad de la baciloscopia aunque muy elevada, no es del 100%, porque la ácido-alcohol resistencia es una propiedad común a todas las especies del género *Mycobacterium* y también a algunas bacterias. Por ello, las micobacterias ambientales se verán exactamente igual al microscopio y, aunque sin forma bacilar, algunos hongos como las nocardias o incluso restos de comida, suciedad o ralladuras de las láminas pueden confundir al técnico poco experimentado. Pero, en la práctica, en los países de alta y media endemia casi todos los casos en los que se obtiene una baciloscopia positiva, corresponde a *M. tuberculosis*.

La baciloscopia es una técnica de elección en el diagnóstico de la tuberculosis porque tiene propiedades que no han sido superadas por ninguna otra metodología, ya que es un procedimiento relativamente sencillo, reproducible, de alta especificidad y de rápida ejecución y bajo costo, que permite su empleo de rutina en laboratorios de mínima complejidad, capaz de detectar los casos baciloscopia positiva, por lo tanto es el método ideal y debe ser irremplazable en la actualidad

VI. TOMA DE MUESTRAS.

Para un buen diagnóstico de la TB a través de la baciloscopía es necesaria una adecuada toma de muestra, en cuanto a calidad y cantidad, en el envase recomendado,

bien identificada, debidamente conservada y transportada al laboratorio en el tiempo oportuno, con el fin de asegurar que los resultados sean exactos.

Envase para recolección de muestra de esputo:

Un requisito esencial para la toma de muestras apropiadas es el envase, el cual debe tener las siguientes especificaciones:

- ◆ Plástico transparente: que permita observar el volumen y la calidad de la muestra sin abrir el envase; para prevenir accidentes y facilitar su adecuado descarte.
- ◆ Boca ancha: para que el paciente pueda expectorar cómodamente dentro del envase sin contaminar el exterior, el diámetro no debe ser menor treinta y cinco milímetros (35 mm).
- ◆ Tapa de rosca: a fin de asegurar un cierre hermético y reducir el riesgo de derrames durante el transporte.
- ◆ Capacidad: de treinta y cinco a cuarenta mililitros (35 a 40 ml).
- ◆ Fácil de rotular: lo que permitirá una identificación indeleble o la colocación de una viñeta.
- ◆ Es recomendable no reutilizar los frascos para evitar la manipulación de material potencialmente infeccioso.

Recolección de las muestras.

Para asegurar la calidad de la baciloscopía se debe explicar con claridad a la persona Sintomática Respiratoria, en adelante SR, la importancia del examen, la necesidad de obtener una buena muestra de esputo y no saliva, la forma de lograrlo, dónde colectarla y cómo manipularla hasta entregarla en el laboratorio.

El esputo es la muestra ideal para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. En el caso de sospecha de tuberculosis extrapulmonar y presencia de síntomas respiratorios se podría tomar también muestras de esputo.

VI. OTROS TIPOS DE MUESTRA

M. tuberculosis puede infectar cualquier órgano del cuerpo, el laboratorio podría recibir una variedad de muestras extrapulmonares, como: líquidos corporales, tejidos, pus, orina y otros.

La sensibilidad de la microscopía en estas muestras es limitada y deben remitirlas para su cultivo. La baciloscopía se realiza con el sedimento de la muestra, por lo que es conveniente que sea procesada directamente en el laboratorio que cultiva la muestra.

Toma de muestra de orina para cultivo BAAR.

Se recomienda que la muestra obtenida sea del segundo chorro de la primera micción de la mañana, se desecha la primera parte para disminuir la carga de contaminantes previa higiene externa; el paciente debe recoger no menos de cincuenta mililitros.

Es importante realizar cultivo debido a la frecuencia con que se encuentran otras micobacterias.

- ◆ Número de muestras: mínimo tres y máximo seis.
- ◆ Frasco con capacidad de trescientas a quinientos mililitros, estéril y boca ancha para facilitar la recolección directa (el resto de la micción).
- ◆ Conservación: la muestra debe ser procesada inmediatamente porque el pH ácido afecta la viabilidad del bacilo. Si se debe transportar hasta otro laboratorio debe enviarse inmediatamente en cadena de frío.

Toma de aspirado gástrico y lavado gástrico.

Generalidades:

- ◆ Número de muestras: mínimo tres.
- ◆ Se emplea especialmente en diagnóstico de tuberculosis infantil y en casos especiales.
- ◆ Se recomienda utilizar esta muestra sólo para diagnóstico y no para control de tratamiento.
- ◆ Se introduce una sonda de longitud y diámetro adecuado a la edad del paciente hasta el estómago.
- ◆ Utilizar el envase apropiado para esputo.
- ◆ Se debe ingresar al paciente una noche antes y tomar la muestra a las cinco horas en ayunas antes de que despierte el paciente; dado que la ingesta de alimentos hace que la expectoración ingerida pase al intestino. El ayuno no debe ser demasiado prolongado y no debe haber estímulo alimenticio que aumente la acidez gástrica (ejemplo: por presencia de la madre ante los lactantes).
- ◆ La muestra debe ser tomada por personal médico o enfermería con experiencia y en coordinación con el personal de laboratorio, para evitar demoras en el procesamiento.
- ◆ La baciloscopía tiene valor relativo, en pacientes infantiles ya que presentan lesiones que contienen escasos bacilos y por lo tanto es poco probable detectarlos y es posible que la muestra contenga micobacterias ambientales que pueden inducir a resultados falsos positivos.

a) Procedimiento: aspirado gástrico para estudio bacteriológico.

- Pasar sonda nasogástrica la noche anterior, fijar y marcar el punto de fijación.
- A las cinco horas sin despertar al paciente, aspirar el contenido gástrico muy suave, con jeringa para no provocar daño.
- Depositar el aspirado en un frasco limpio, en el laboratorio se procede a estabilizar la muestra con bicarbonato.
- Procesar la muestra dentro de las cuatro horas siguientes a la recolección.

- Si la muestra es menor de cinco mililitros realizar lavado gástrico.

b) Procedimiento lavado gástrico.

- Una vez que la sonda está en el estómago y no se pudo obtener el aspirado gástrico, es necesario introducir a través de la sonda entre 30 y 50 mililitros de agua destilada estéril o solución salina estéril y aspirar nuevamente muy suave con jeringa, para que la succión no provoque daño. Colocando el material en un frasco limpio y de tamaño adecuado.
- La cantidad mínima recuperada debe ser de 20 mililitros.
- Rotular la muestra como lavado gástrico.
- El material debe ser enviado inmediatamente al laboratorio, ya que debe ser cultivado durante las cuatro horas siguientes a su obtención.

c) Líquido cefalorraquídeo.

- La toma de este material es exclusiva del personal médico.
- Cantidad de muestras: todas las que el médico crea conveniente. Cuanto mayor es la cantidad de muestras procesadas, mayor es la posibilidad de hallazgo de bacilos.
- Tubo estéril con tapa de rosca y cierre hermético, capacidad de 10 -15 mililitros, sin anticoagulante.
- Se debe procesar inmediatamente o almacenarlo a 4° C por un tiempo no mayor de doce horas.

d) Líquidos ascítico, pericárdico, articular, médula ósea, otros.

- ◆ La obtención de estas muestras están designadas al personal médico.
- ◆ Número de muestras: las que el médico considere conveniente.
- ◆ Tubo estéril, tapón hermético de rosca con capacidad adecuada para la cantidad de la muestra. Puede agregarse tres gotas de anticoagulante como citrato de sodio al 10% o EDTA, por cada 10 mililitros de muestra.

- ◆ Se debe procesar inmediatamente o almacenarlo a 4° C por un tiempo no mayor de doce horas.

e) Líquido pleural.

A todo líquido pleural para investigación de adenosin de aminasa, en adelante ADA, se debe realizar cultivo BAAR del precipitado de la muestra.

f) Biopsias y material resecado.

- Será tomada por el personal médico.
- En el caso de biopsia de endometrio, la muestra debe consistir preferentemente en raspado uterino; tomado durante la primera fase del ciclo menstrual o en el período de ovulación.
- Utilizar frasco estéril.
- Agregar 1 o 2 mililitros de solución salina o agua destilada estéril, para evitar la desecación.
- No agregar formol a la muestra utilizada para estudio bacteriológico BAAR porque es letal para el bacilo.
- Para el estudio histopatológico la muestra debe ser preservada en formol al 10%.
- El material debe ser enviado inmediatamente al laboratorio para su cultivo, o ser conservado en refrigeración y protegido de la luz hasta su envío.

g) Pus

- Utilizar frasco estéril
- Es preferible no utilizar hisopos para evitar la desecación. En caso de hacerlo, se recomienda humedecerlos previamente con solución fisiológica o agua destilada estéril.
- Enviar inmediatamente al laboratorio que hace el cultivo o ser conservada en refrigeración y protegida de la luz hasta su envío, no más de cuarenta y ocho horas.

VII. RECEPCIÓN, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS.

Recepción de los pacientes:

- Debe realizarse de manera ágil, de tal forma que no espere; la permanencia prolongada genera riesgo de transmisión de la tuberculosis en el establecimiento de salud a otros pacientes y al personal.
- Para incrementar la búsqueda de casos de tuberculosis, las muestras de esputo deben ser colectadas en el momento más adecuado para el paciente y entregadas en cualquier hora del día, mientras el establecimiento de salud esté abierto.
- El examen debe ser realizado con la mayor premura posible, dentro de una rutina lógica de trabajo.

En el momento de recibir las muestras, se debe verificar que:

- El formulario de solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis (PCT-3) contenga toda la información requerida con letra legible.
- Los frascos estén claramente identificados en el cuerpo, no en la tapa y cerrados herméticamente.
- Insistir en las instrucciones al paciente para la toma de la segunda y tercera muestra.
- No rechazar muestras.

Conservación de las muestras:

- Después de recibida la muestra, es necesario agilizar los procedimientos.
- Si las muestras de esputo no van a ser referidas o procesadas en el día, deben ser conservadas en refrigeración, si no se cuenta con refrigerador, ubicarlas en un lugar fresco y protegidas de la luz no más de cuarenta y ocho horas.

- Después de recibida la muestra, es necesario agilizar los procedimientos en todo lo posible. Cuanto antes se procese, mayor será la posibilidad de encontrar en ella *M. tuberculosis* por baciloscopía o cultivo. La temperatura ambiente y el transcurso del tiempo favorecen la multiplicación de los gérmenes habituales del árbol respiratorio y de la boca, que desnaturalizan las proteínas del esputo, dificultan la elección de la partícula útil y favorecen la destrucción del bacilo.

Transporte de las muestras:

- Cuando el establecimiento de salud no cuenta con laboratorio, su personal debe conocer a qué laboratorio referir las muestras.
- Es recomendable que el transporte sea hecho, por lo menos, dos veces por semana. Se deben establecer los días de la semana en los que se efectuarán regularmente los envíos, el medio de transporte, el horario de salida y de llegada.
- Para el transporte de baciloscopías debe utilizarse el embalaje adecuado.
- Las muestras enviadas para cultivo deben ser transportadas en cadena de frío y en triple embalaje.
- Cada envío debe ser acompañado por las hojas de solicitud de examen bacteriológico correspondiente (PCT-3), con la información requerida y letra legible, especificando si es muestra para diagnóstico o para control de tratamiento en la que se indicará el mes al que corresponde y fuera del embalaje que contiene las muestras.

Siempre para el envío deben considerarse tres condiciones importantes:

- No exponer al calor excesivo y a la luz solar.
- Evitar el riesgo de derrame.
- No referir a los pacientes a otra unidad solo para recolectar las muestras de esputo.

Recepción en el laboratorio

El personal del laboratorio que recibe las muestras debe:

- Aplicar las medidas de bioseguridad.
- Abrir la caja sobre una mesa en el área de recepción de laboratorio o donde procesa su muestra, inspeccionando si se han producido derrames.
- En caso de confirmar el derrame desinfectar el exterior de los envases utilizando algodón humedecido con hipoclorito de sodio al 0.5 %. Si ha sido masivo desinfectar toda la caja.
- Verificar que las muestras estén bien identificadas.
- Notificar al servicio que envió las muestras, si se han observado inconvenientes.

Si el laboratorio que recibe las muestras no realiza cultivo, debe enviarlo al laboratorio de referencia siguiendo los lineamientos técnicos de envío de muestras.

VIII. EQUIPOS, MATERIAL Y REACTIVOS.

El personal de laboratorio para la utilización de estos recursos debe tomar en cuenta lo siguiente:

Equipo.

- Microscopio binocular.
- Reloj marcador de tiempo.

Materiales.

- Mechero de alcohol.
- Bandeja metálica - con soporte para láminas.
- Aplicadores de madera.
- Lámina portaobjeto 3 x 1 pulgada esmerilada.
- Frascos de vidrio ámbar para colorantes.
- Plumón indeleble.

- Gradilla para láminas.
- Envases plásticos de 40 mililitros.
- Papel filtro.
- Embudos plásticos.
- Papel toalla o periódico.
- Lapicero azul.
- Lapicero rojo.
- Libro de registro de laboratorio. (PCT 4).
- Fósforos.
- Papel limpia lentes.
- Jabón para manos.
- Algodón.
- Lápiz grafito.
- Frascos lavadores.
- Mascarillas N-95 o N-100 de BFE.
- Guantes descartables.
- Caja de baquelita porta láminas.

Reactivos.

- Fucsina fenicada 0.3%
- Alcohol ácido 3 %
- Azul de metileno 0.1%
- Lejía comercial al 0.5 % o Fenol al 5 %.
- Alcohol 90 %.
- Aceite de inmersión. (Índice de refracción = 1.515-1.517. Viscosidad = 100-120)

Uso y cuidados del microscopio. (anexo 2)

Es el instrumento fundamental en el trabajo de microscopia directa del laboratorio.

Su función principal es magnificar los objetos dentro del campo microscópico a un tamaño que pueda ser visto por el ojo humano.

El poder de resolución del microscopio dependerá de su buen uso y mantenimiento.

Uso del microscopio. (anexo 2)

El personal de laboratorio a cargo debe:

- Revisar que la fuente de iluminación esté bien regulada y centrada.
- Asegurar que las lentes, y otras superficies que transmiten luz estén bien limpias.
- Ajustar la luz, el condensador y el diafragma a fin de que llegue un haz de luz potente a la lente del objetivo.
- Colocar adecuadamente el portaobjetos en la platina.
- Girar los tornillos de ajuste lentamente hasta que la imagen se vea clara.
- Al utilizar el objetivo 100x bajarlo lentamente hasta que entre en contacto con el aceite de inmersión, girar el tornillo de ajuste fino para enfocar.

Cuidados del microscopio.

El personal de laboratorio debe:

- Verificar su buen estado óptico y mecánico.
- Colocar una cubierta plástica o de tela preferentemente para protegerlo del polvo.
- No debe estar ubicado en un sitio donde existan vibraciones o esté expuesto a sustancias químicas o corrosivas.
- Evitar que los objetivos de uso seco y la platina entren en contacto con el aceite de inmersión si esto sucede se deben limpiar inmediatamente.
- Para quitar el aceite del objetivo de inmersión, debe utilizarse papel lente o algodón en seco.

- Al término de cada jornada de trabajo, se debe limpiar cuidadosamente, en especial el objetivo de inmersión y dejarlo con papel lente o algodón; para eliminar el exceso de aceite.
- Al cambiar el microscopio de lugar, se debe tomar del brazo para no arrastrarlo, evitando daños posteriores.
- Cada microscopio debe ser manipulado cuidadosamente y dar el mantenimiento indicado; de observar algún defecto, debe ser someterlo a revisión por el técnico competente.

IX. LUGAR DE TRABAJO Y MATERIALES.

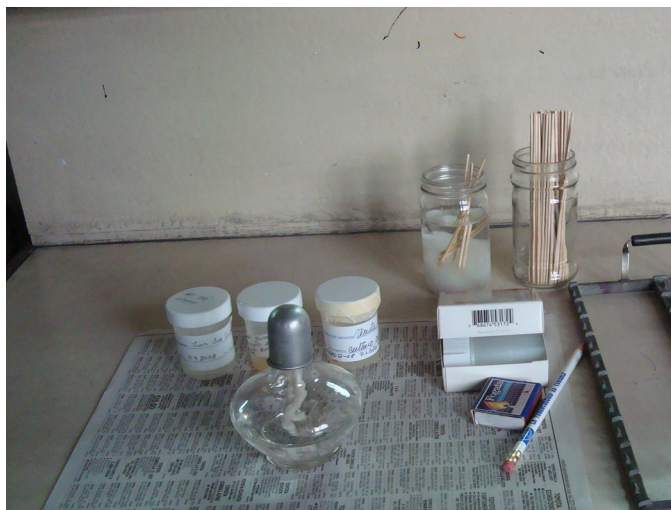
El personal de laboratorio debe tomar en cuenta que las baciloscopías se pueden realizar en cualquier laboratorio que posea un microscopio con lente de inmersión en buenas condiciones, e insumos de bajo costo.

Deben seguir los siguientes requisitos que aseguren calidad y minimicen los riesgos:

- Área de trabajo exclusiva, en lo posible; de lo contrario es necesario escoger un sitio preferentemente alejado de la entrada, para evitar corrientes de aire y movimiento de personal alrededor durante el procesamiento de las muestras.
- Buena iluminación.
- Ventanas o extractor para renovar el aire una vez finalizado el trabajo.
- Pisos lavables, que puedan ser desinfectados con solución de hipoclorito de sodio.
- Una mesa para colocar las muestras que se reciban, para realizar los extendidos y en lo posible cubierta con material liso y resistente a soluciones germicidas (fórmica, acero inoxidable o materiales similares).
- Un lavabo con fuente de agua y desagüe, en el que se pueda lavar las manos y realizar la tinción.

- Una gaveta o alacena para los reactivos, portaobjetos y demás materiales.
- Una mesa para el microscopio.
- Una mesa para escribir los informes y los registros del laboratorio.
- Un lugar para almacenar los frotis.

X. PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO.



Antes de empezar el trabajo, los técnicos deben lavarse las manos y colocarse el equipo de protección personal requerido.

Se debe procurar que cada serie de muestras a procesar, no sea superior a doce. Las láminas deben estar en buen estado, de preferencia nuevas, y si es necesario desengrasarlas previamente.

Las etapas de preparación del extendido son las siguientes:

- Colocar sobre la mesa de trabajo una hoja doble de papel periódico, humedecida con la solución de hipoclorito de sodio al 0.5% o fenol al 5 %. Esta hoja de papel constituye el área contaminada, porque sobre ella deben realizarse las etapas más peligrosas de todo el procedimiento, desde la apertura del envase y preparación del extendido hasta el cierre del envase.
- Colocar las muestras sobre la mesa de trabajo en el área delimitada en línea horizontal. Si las muestras han estado en movimiento, dejar reposar los envases antes de abrirlos.

- Para cada muestra, numerar una lámina portaobjeto siempre en el esmeril de la lámina. Debe ser el mismo número asignado de la boleta y el frasco. (Lo ideal es utilizar láminas esmeriladas y en ese caso se marcarán con lápiz de grafito en el esmeril de la lámina). Durante esta etapa, se debe tener la precaución de no tocar con los dedos la parte destinada al extendido porque puede engrasarse.
- Destapar cuidadosamente sólo el frasco de la muestra que se va a procesar, cerca del mechero encendido, el cual estará colocado entre la persona y la muestra, como medio de protección; el frasco se coloca, sobre el papel junto a la lámina correspondiente, comprobando que ambos tengan el mismo número; se divide el aplicador de madera en dos, utilizando la parte astillada para tomar la partícula útil, constituida por la parte purulenta de la muestra, pues da la mayor seguridad de contener bacilos. Si se observan varias partículas purulentas se mezcla con los aplicadores y se utiliza una porción de la mezcla.
- Tomar la lámina con los dedos en la parte correspondiente al número. Colocar la partícula sobre la lámina, extendiéndola con el aplicador realizando movimientos suaves circulares, tratando de dispensarla en forma homogénea en el centro de la lámina, dibujando un óvalo de 2 centímetros de largo por 1 centímetro de ancho, sin llegar a los bordes de la lámina para evitar que el operador se contamine al manipularla.
- Para que esta película sea realmente homogénea, es necesario tomar una partícula grande eliminando el sobrante con el mismo aplicador. Nunca debe calentarse la lámina mientras se está haciendo el extendido, pues se forman aerosoles, existiendo el riesgo de infectarse a través de las vías respiratorias, además en el extendido se forman círculos concéntricos y precipitados granulosos, la película pierde su homogeneidad dificultando la lectura.

La selección de la partícula más purulenta de la muestra, es uno de los pasos más importantes para aumentar la probabilidad de identificar los casos de tuberculosis mediante la baciloscopía directa de esputo.

- Al terminar el extendido, se deben desechar los aplicadores en un recipiente con desinfectante y cerrar el frasco. Los extendidos se dejan secar a temperatura ambiente. Las muestras ya procesadas sólo deben ser descartadas después de la observación microscópica, colocándoles a cada frasco hipoclorito de sodio al 0.5% o fenol al 5%.
- Una vez secos los extendidos se fija la lámina, pasándola rápidamente sobre la llama tres veces, cuidando que no se caliente demasiado, con el extendido hacia arriba.
- Colocar los extendidos en un soporte a medida que se van fijando y llevarlos al sitio de coloración.
- Al finalizar el trabajo, el papel periódico, que constituye el área contaminada y los aplicadores usados, deben ser cuidadosamente descartados en el depósito de material bioinfeccioso.

Los extendidos deben ser coloreados de inmediato, ya que algunos bacilos pueden permanecer vivos después de fijados con calor hasta que incorporan la fucsina.

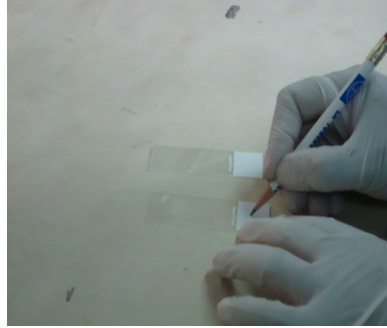
Decontaminación y desecho del material.

Agregar 10 gotas de hipoclorito de sodio al 0.5% a cada frasco y colocarlos en las bolsas de color rojo para su descarte final, según procedimiento empleado en cada establecimiento.

PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO.



1. ORDENAR LAS MUESTRAS



2. MARCAR LOS PORTAOBJETOS



3. PARTIR EL APLICADOR



4. SELECCIONAR LA PARTÍCULA MÁS PURULENTO



5. DEPOSITAR LA MUESTRA EN EL PORTAOBJETOS



6. EXTERDER LA MUESTRA UNIFORMEMENTE



7. FIJAR EL EXTENDIDO CUANDO ESTÉ TOTALMENTE SECO, PASÁNDOLA RAPIDAMENTE TRES VECES SOBRE LA LLAMA DEL MECHERO DE DERECHA A IZQUIERDA

El personal de laboratorio debe utilizar la técnica de Ziehl Neelsen con los siguientes pasos:

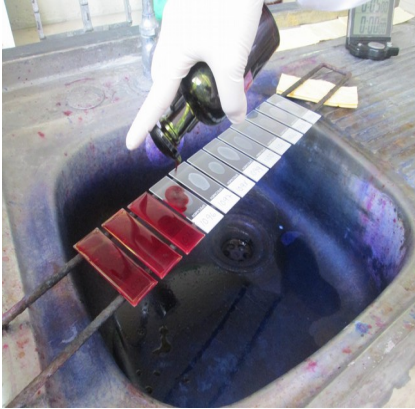
- Filtrar e identificar los colorantes antes de utilizarlos.
- Colocar la serie de láminas fijadas (no superior a 12) sobre la varilla que está en el lavado, con el extendido hacia arriba separadas una de otra como mínimo un centímetro y con el número hacia el operador.
- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con fucsina fenicada previamente filtrada. Se calienta suavemente con la llama, improvisando una pequeña antorcha, pasándola lentamente por debajo de las láminas hasta que se produzca emisión de vapores; cuando estos sean visibles se deja de calentar. Al cesar la emisión de vapores se calienta nuevamente, se repite esto una vez más hasta completar tres emisiones sucesivas. La fucsina no debe hervir (la pared de los bacilos puede destruirse y colorearse mal) y si disminuye por evaporación o derrame, hay que reponerla porque el extendido debe estar cubierto constantemente durante el calentamiento. El tiempo que lleva el proceso es de cinco minutos.
- Eliminar la fucsina tomando el portaobjetos por el extremo numerado, inclinándolo hacia adelante y lavar dejando caer una corriente de agua a baja presión sobre la parte esmerilada de la lámina (donde no hay extendido), la que escurrirá suavemente sobre la película.
- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con alcohol ácido hacer un movimiento de vaivén de modo que el alcohol vaya decolorando y a la vez arrastrando suavemente la fucsina. Cuando el alcohol ácido adquiere coloración roja se elimina en la misma forma como se hizo con la fucsina y si el extendido conserva un tinte rosado en sus partes más gruesas, se decolora nuevamente. Se considera decolorado el extendido cuando sus partes más gruesas conservan solo un ligero tinte rosado. Si las partes más densas quedan mal decoloradas, se pueden observar bacterias teñidas de color rojo que no son micobacterias.
- El tiempo de decoloración es de dos minutos.

- Una vez eliminado el alcohol ácido, lavar nuevamente las láminas como se hizo después de la coloración con fucsina, cuidando de no desprender la película.
- Coloración de contraste. Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con azul de metileno y dejarlo un minuto.

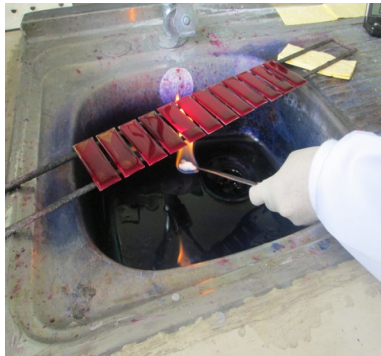
Lavar tanto el extendido como la cara inferior del portaobjetos, procediendo en la forma que se indicó para la fucsina, e ir colocando cada lámina en la gradilla de secado, hasta que se seque a temperatura ambiente, conservando siempre el orden establecido.

Nota: Los reactivos para coloración serán proporcionados por el laboratorio nacional de referencia, ya que cuenta con su control de calidad respectivo.

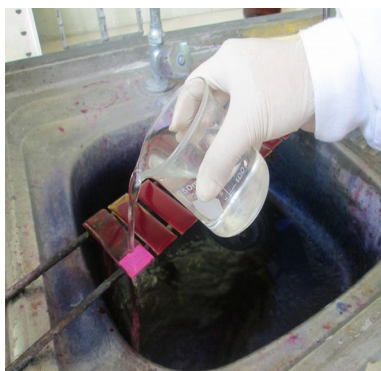
TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN



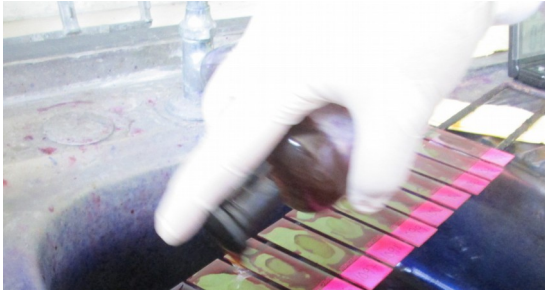
1. Cubrir con fucsina filtrada



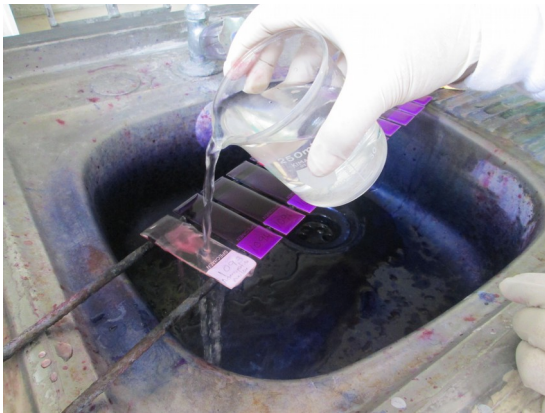
2. Calentar hasta obtener 3 emisiones de vapor. Apagar antorcha y esperar completar 5 minutos.



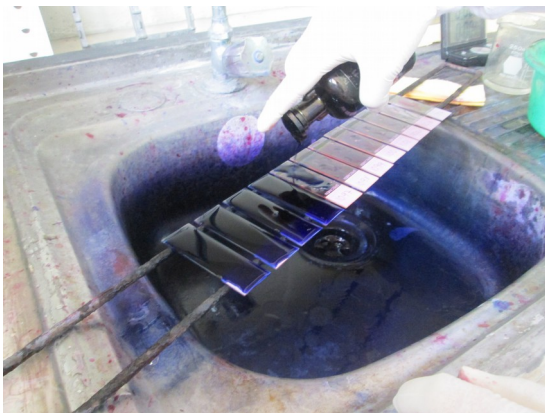
3. Lavar con agua



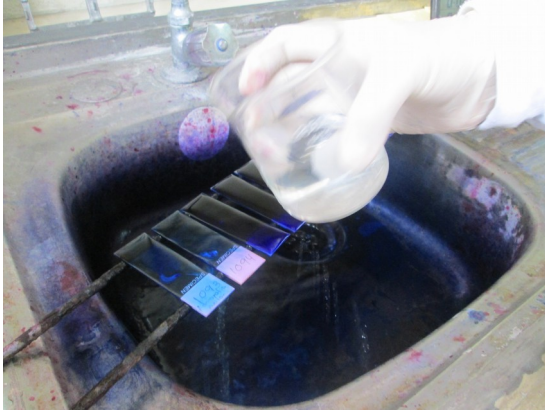
4. Cubrir con decolorante durante 2 minutos



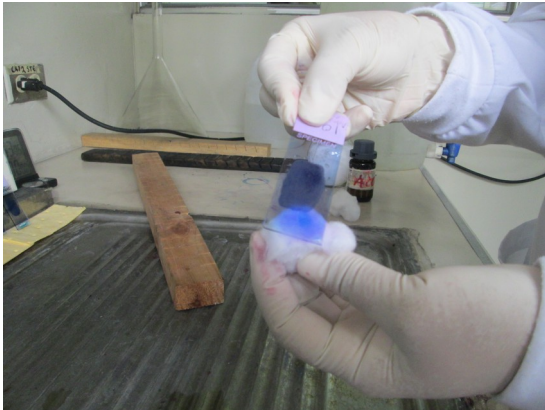
5. Lavar con agua nuevamente



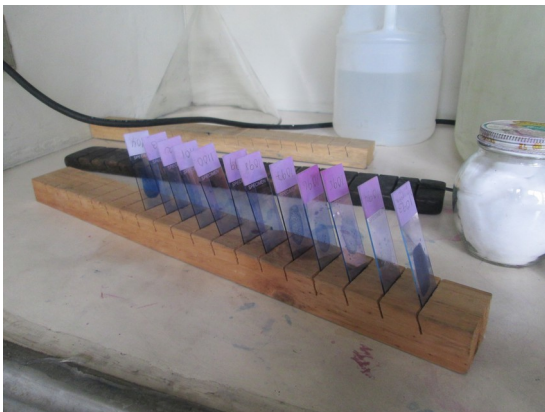
6. Cubrir con azul de metileno 1 minuto.



7. Lavar con agua



8. Limpiar la parte posterior de la lámina.



9. Secado al aire

XII. EXAMEN MICROSCÓPICO.

Observación microscópica y lectura de extendidos.

La observación microscópica debe cumplir principalmente dos objetivos:

- Determinar si en el extendido hay BAAR.
- Si los hay, cuantificar aproximadamente el número de bacilo por campo.

Características morfológicas del bacilo de la tuberculosis.

Los bacilos acidorresistentes tienen entre 1 y 10 μm de largo. Con la coloración de Ziehl Neelsen se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia, destacándose claramente contra el fondo azul.

En la muestra de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados. Es muy difícil distinguir el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias por examen microscópico. Algunas micobacterias que no son *M. tuberculosis*, pueden aparecer como bastones muy largos o como cocobacilos.

Otros microorganismos pueden presentar distintos grados de ácido resistencia, como *Rhodococcus* sp., *Nocardia* sp., *Legionella* sp. y los quistes de *Críptosporidio* e *Isospora* sp. Se observan como cocos, bacterias con formas variadas (pleomórficas), filamentos que a veces están cortados, o como esferas de gran tamaño si se las compara con las bacterias.

Es importante considerar que resulta poco frecuente encontrar más de diez microorganismos ácido alcohólicos resistentes diferentes a *M. tuberculosis* en las muestras de esputo de los SR.

Cuando el personal de laboratorio observa algún germen que no tiene forma de bastón debe enviar la lámina al nivel correspondiente.

Lectura de extendidos coloreados por Ziehl Neelsen.

El personal de laboratorio debe:

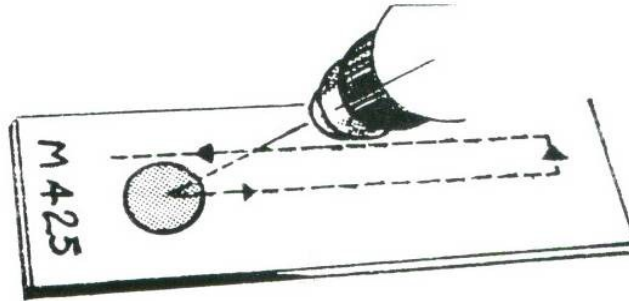
- Depositar una gota de aceite de inmersión, sin tocar el preparado con el gotero.
- Enfocar el extendido donde ha colocado la gota de aceite, con la lente 100x de inmersión.
- Observar cada campo microscópico en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el tornillo micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo. Seguir el recorrido sistemáticamente en el extendido, evitando repetir la lectura de algunos campos.
- Observar la calidad del extendido y de la coloración. Si no fuesen buenas, repetir nuevamente la baciloscopía de esa muestra.

Técnica de lectura

- Para el examen es necesario microscopio binocular con objetivo de inmersión (100 x campo) y oculares de aumento moderado.
- Examinar un mínimo de 100 campos microscópicos. La lectura debe hacerse de manera sistemática y estandarizada, ajustando levemente con el tornillo micrométrico.
- Después de haber observado un campo microscópico, mover la lámina para examinar el siguiente. De esta manera, ver todos los campos del extendido. El número de campos microscópicos que corresponde a la longitud del frotis es de cien aproximadamente.
- Se considera campo microscópico útil, aquel en el cual se observan elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células). Los campos en los que no aparezcan dichos elementos, no deben contabilizarse en la lectura.
- Cuando no se encuentren bacilos ácido-alcohol resistente (BAAR), en 100 campos; se debe hacer una nueva búsqueda más cuidadosa en otros 100 campos
- Los bacilos tuberculosos se observan como pequeños bastones delgados y rojos, ligeramente curvos, más o menos granulosos, aislados, pareados o en grupos,

destacándose claramente contra el fondo azul. Se debe calcular el número de bacilos vistos por campo.

- Al finalizar el examen, se debe separar el objetivo de la lámina, retirarla y verificar la identificación con el número grabado en la lámina y anotar el resultado en el libro de registro PCT- 4, posteriormente, se deben anotar los resultados en la PCT -3.
- Antes de examinar un nuevo frotis, se debe limpiar el lente de inmersión con papel para limpiar lentes o algodón.
- Posteriormente, se debe limpiar el aceite de la lámina y guardarla para su envío al control de calidad.



Informe de resultados.

El número de bacilos encontrados es muy importante como elemento de información, dada su relación con el grado de contagiosidad del paciente, así como con la severidad de la enfermedad y la evolución del paciente bajo tratamiento. Por esta razón el informe debe ser cualitativo y cuantitativo.

Se recomienda seguir las siguientes pautas para la presentación del informe de los resultados:

NÚMERO DE BACILOS ENCONTRADOS	CAMPOS DE INMERSIÓN OBSERVADOS	REPORTE
No se observan BAAR en	100 campos	Negativo
De 1 a 9 BAAR en	100 campos	Número exacto de bacilos observados en los 100 campos *
DE 0 - 1 BAAR por campo en	100 campos	** +
DE 1 – 10 BAAR por campo en	50 campos	++
Más de 10 BAAR por campo en	20 campos	+++

* Colocar este reporte en observaciones en la PCT-3, con tinta de color rojo; por ejemplo “Se observan 5 bacilos en 100 campos observados.”

** Para reportar una baciloscopía como positiva una cruz (+), debe de haber visualizado más de 10 bacilos en todos los campos observados.

Enviar el resultado lo más pronto posible al establecimiento de salud o al médico que solicitó el examen. El tiempo que tarda en enviar los resultados es indicador de la eficiencia de cada laboratorio.

Toda demora en la entrega de un resultado positivo puede retrasar el inicio del tratamiento, prolongar el periodo durante el cual el paciente permanece infeccioso o determinar que se pierda un enfermo, por lo que se debe realizar el mayor esfuerzo posible para que los resultados de la baciloscopía sean recibidos al más corto plazo.

Todo resultado positivo, debe informarse inmediatamente al encargado del programa de control de la tuberculosis del establecimiento de salud.

XIII. BIOSEGURIDAD.

El personal de laboratorio de cumplir en todo momento las medidas básicas de bioseguridad durante la realización de los extendidos de baciloscopías, para evitar considerablemente el riesgo de infección. Lo que se logra mediante la organización en el trabajo, la concentración, el estado de alerta y la implementación de medidas de precaución muy simples y de poco costo.

Es importante recordar que en el momento que se está frente al paciente tosedor, es el mayor riesgo de infectarse por aspiración de núcleos de gotas conteniendo BAAR.

Información y control médico del personal de laboratorio.

- Los trabajadores de salud infectados con VIH u otra enfermedad inmunosupresora, con tratamientos prolongados con medicamentos inmunosupresores (como corticoides) o diabéticos no deben trabajar en áreas de riesgo, en particular en el laboratorio de tuberculosis.
- Los que padecen enfermedades pulmonares crónicas deben contar con autorización de su médico para ser incorporados a las tareas del laboratorio de tuberculosis.
- Son necesarias las reuniones periódicas con todo el personal de laboratorio, destinadas a recordar las medidas de bioseguridad, analizar si se están cumpliendo con regularidad, dilucidar las causas de los accidentes que pudieran haberse producido y realizar las correcciones que fueran necesarias en la rutina de trabajo.
- Cuando el personal presente síntomas respiratorios por más de quince días, se deberá disponer su examen médico, baciloscopía, radiografía de tórax y cultivo de muestras de esputo.
- En cada sección deben estar expuestas las normas básicas de bioseguridad específicas para cada tipo de tarea.
- El personal debe informar a su jefe inmediato cualquier accidente de trabajo.

Precauciones generales en el trabajo de microscopía para el diagnóstico de tuberculosis.

- Aplicar todas las medidas lógicas para evitar la generación y movimiento de aerosoles que son el vehículo principal de transmisión de bacilos.
- Manipular el material potencialmente infeccioso en áreas alejadas de la circulación general. Restringir el acceso al laboratorio de personal ajeno al área de trabajo para evitar movimientos, corrientes de aire, distracciones y exposición de personas no involucradas.
- No utilizar ventiladores ni acondicionadores que generen movimientos de aire en el área donde se manipula material potencialmente infeccioso, mientras se está trabajando.
- Al finalizar la tarea y antes de poner en funcionamiento ventiladores y aires acondicionados, desinfectar las superficies de mesas donde se realizaron los extendidos y donde se colocaron recipientes con material potencialmente infeccioso, se recomienda no permitir el ingreso de personas ajenas a esta actividad durante media hora como mínimo y luego ventilar para eliminar vapores de cloro o fenol.
- No barrer ni limpiar superficies en seco, utilizar siempre un trapeador húmedo. No encerar. No levantar polvo al limpiar.
- No ubicar en el área de trabajo objetos innecesarios (adornos, plantas, floreros y otros) ni sacar registros o elementos allí utilizados.
- Utilizar siempre gabachas de mangas largas y cerrada; la gabacha es útil para proteger de las sustancias químicas, colorantes y salpicaduras accidentales con muestras, pero no contra la infección por vía aerógena.
- Utilizar mascarillas N-95 o N-100, la mascarilla debe cumplir las normas de la NIOSH. deben ser de uso personal. Pueden ser reutilizadas siempre y cuando se conserven en un lugar seco y no adquieran humedad, ni se deformen; para que

no se humedezcan no guardarlas dentro de envolturas plásticas. El tiempo de uso se recomienda como máximo una semana, pero sí está en perfecta condición.

- El uso de guantes para el trabajo con muestras de esputo es necesario, lo mismo para limpiar derrames, manipular desinfectantes.
- Lavarse las manos antes y después del uso de guantes siempre que fuera necesario, no tocar instalaciones, material de escritorio o equipo del laboratorio con los guantes puestos.
- No beber, comer ni fumar en el área de trabajo donde se procesa material potencialmente infeccioso, o introducir en la boca, por ningún motivo, elementos utilizados o existentes en el laboratorio.

Recomendaciones generales en el área de trabajo.

- El área de trabajo debe mantenerse limpia y ordenada con suficiente luz (natural o artificial) y buena ventilación.
- En caso de accidente, que se derrame una muestra en el piso o en la mesa de trabajo, colocar hipoclorito de sodio al 0.5 % o fenol al 5%, cubrir con papel periódico y empapar cuidadosamente el papel. Dejarlo durante treinta minutos antes de limpiar el área. Luego descartarlo como material bioinfeccioso.
- Todo material contaminado: láminas portaobjetos, frascos recolectores de esputo, y otros; antes de salir del laboratorio deben recibir tratamiento de descontaminación; descartando el material adecuadamente.
- Ningún equipo de protección sustituye el cuidado, orden y precaución que debe tener cada técnico al realizar su trabajo.
- Si se produce una herida cortante o punzante en el momento en que se está manipulando muestras, extendidos, o material descartado, el personal debe lavarse las manos o la zona afectada de inmediato con abundante agua y jabón, aplicando inmediatamente alcohol etílico al 70%. Si el accidente fuese con una muestra positiva se debe consultar con el medico, para determinar si es necesario el uso de quimioprofilaxis.

- Si se produce una salpicadura que afecte el ojo con material potencialmente infeccioso o un reactivo, se debe lavarlo con agua destilada o solución fisiológica estéril utilizando un recipiente estéril.
- Si se produce contacto con un ácido concentrado, lavar la zona y ropa afectada con abundante agua.
- Comunicar al jefe de laboratorio luego de tomar las medidas descritas y anotar la fecha del accidente.

Método de limpieza de láminas portaobjetos posterior al control de calidad.

Decontaminación:

Proceso mediante el cual se eliminan total o parcialmente los microorganismos. Este término también es utilizado para referirse a la eliminación o neutralización de sustancias químicas peligrosas y materiales radioactivos. El objetivo es volver cualquier material seguro para el descarte final o para su reutilización.

La acción germicida de los desinfectantes químicos se ve afectada por algunos factores tales como: concentración del desinfectante y microorganismos presentes, al igual que en los métodos físicos, el tiempo y presencia de materia orgánica es un factor primordial. Para el uso de desinfectantes, se deben seguir las especificaciones del fabricante; porque los tiempos de contacto son distintos para cada material y cada fabricante.

Limpieza de láminas utilizadas en el diagnóstico de tuberculosis a través de microscopía:

- Colocar las láminas negativas usadas en un recipiente con lejía comercial al 5 %, durante cuarenta y ocho horas.
- Lavar con agua corriente y detergente.
- Enjuagar con agua destilada (preferiblemente).

- Secar a temperatura ambiente o calor seco.

Limpieza de mesas de trabajo:

Las mesas de laboratorio se deben desinfectar con hipoclorito de sodio al 0.1 % (lejía 5 % diluida 1:50) o al 0.5 % (lejía 5 % diluida 1:10), antes y después de la rutina de trabajo. La desinfección de las mesas debe ser hecha por el personal técnico, no deben dejarse al personal de limpieza.

Las diluciones de lejía deben prepararse cada día, ya que éstas liberan cloro en forma gaseosa con lo que se debilita su potencial germicida transcurrido el tiempo, además las soluciones de hipoclorito de sodio son inactivadas en presencia de grandes cantidades de materia orgánica.

XIV. SUPERVISIÓN Y CONTROL DE CALIDAD.

Para supervisar es preciso contar con técnicas operativas estándares. La supervisión implica observación, coordinación, corrección, enseñanza, estímulo y evaluación de las actividades del personal que se desempeña en los laboratorios, con el propósito de que el trabajo sea realizado en forma eficiente.

Es un proceso educativo recíproco, permanente, regular y planificado, que permite desarrollar los conocimientos y la capacidad del personal, crear actitudes respecto al trabajo y contribuir a mantener la eficacia de una red de servicios organizados, en este caso, los laboratorios que efectúan técnicas bacteriológicas de tuberculosis.

Métodos de supervisión.

a) Procedimientos indirectos.

Son aquellos que se efectúan a distancia, basados en algunas de las siguientes modalidades:

- Envío de muestras o láminas de resultado conocido por el nivel supervisor al supervisado, para comparar los resultados.

- Envío de láminas del trabajo habitual desde el nivel local al nivel intermedio o al nivel superior para comparar los resultados y evaluar la aplicación de la técnica baciloscóptica. Esta modalidad es la más aceptable desde el punto de vista operacional y constituye la supervisión técnica indirecta.
- El análisis crítico, cuantitativo y cualitativo de la información estadística.

b) Procedimientos directos.

Estos procedimientos se basan en la visita personal de funcionarios del nivel superior a los servicios locales lo que constituye la supervisión técnica y administrativa directa. Por su contacto personal, es más rápida, efectiva permitiendo adoptar decisiones en el terreno. Sin embargo, desde el punto de vista operacional, resulta difícil de llevar a cabo en forma regular y oportuna; por las limitaciones de tiempo, movilización y factibilidad de cobertura del supervisor.

Control de calidad indirecto de las baciloscopías.

El control de calidad es un procedimiento que emprenden en conjunto los distintos niveles de la Red de laboratorios tiene como objetivo elevar y mantener la calidad de trabajo. No tiene carácter punitivo (aplicación de sanciones).

El control de calidad permite:

- Evaluar si la información producida por el laboratorio es precisa, reproducible y oportuna.
- Establecer un sistema de alarmas que permite prevenir, descubrir y corregir errores.
- Resulta más eficaz para detectar y asistir a los casos de tuberculosis para controlar la enfermedad.

Control de calidad interno.

El responsable de laboratorio debe establecer un sistema de controles regulares y continuos de los puntos críticos. Es un compromiso que se debe asumir en cada laboratorio que realiza baciloscopías.

El control de calidad interno comprende:

- Evaluación de materiales, equipos y reactivos.
- Desempeño del personal.
- Procedimientos estandarizados.
- Informes precisos y oportunos.
- Oferta y aplicación adecuada de la baciloscopía.
- Rendimiento de la baciloscopía para detectar casos.
- Seguimiento de los resultados obtenidos.
- Medidas correctivas a aplicar cuando la imprecisión del resultado excede los límites considerados aceptables o se producen demoras evitables.

Preparación de láminas para el control interno de la coloración:

El personal debe cumplir los siguientes procedimientos:

- Preparar extendidos de muestras positivas y negativas, tratadas previamente con 10 gotas de hipoclorito de sodio al 0.5% durante por lo menos media hora. Preparar con ellas tantos extendidos como sean necesarios, para que puedan ser utilizados durante dos meses. Guardarlas en cajas con separaciones, diseñadas para guardar extendidos, o dentro de una caja envueltas en papel suave, bien acondicionadas, en lugar seco.
- Controlar la calidad de la coloración en cada serie de extendidos a colorear, tiñendo una lámina negativa y otra positiva. Registrar el resultado de este control de calidad en la PCT- 4. (anexo 4).

- Comprobar que los BAAR se vean completa e intensamente coloreados con fucsina y que la coloración de fondo sea uniforme, del color esperado y que ofrezca buen contraste.
- Si se detectan defectos, repetir el control con otros extendidos para descartar un posible error en la técnica de tinción. Si persiste el defecto, investigar la causa de error. Si se realizan más de diez baciloscopías por día, se debe repetir el control arriba descrito (coloración de un extendido positivo y uno negativo) una vez por semana.
- Si se realizan menos de diez baciloscopías por día se deben incluir los frotis positivo y negativo como control diariamente.

Control de registros e indicadores de la calidad de trabajo:

- Verificar que las muestras estén siendo procesadas en el día en que fueron recibidas o al día siguiente. Si el laboratorio no puede hacer baciloscopías todos los días o si recibe muestras de centros periféricos, verificar que no transcurran más de cinco días desde que las muestras fueron tomadas hasta que son procesadas e informadas.
- Controlar que los resultados de las baciloscopías se estén entregando regularmente como máximo tres días hábiles después de procesada la muestra.
- Verificar que los resultados sean recibidos por personal responsable del sistema de salud.
- Comprobar que hayan sido derivadas para cultivo las muestras que lo requieren, de acuerdo a lo establecido en los instrumentos técnico jurídicos.

Analizar y mantener un registro de los siguientes indicadores:

- Concentración de baciloscopía por Sintomático Respiratorio.
- Rendimiento técnico.
- Número de baciloscopías realizadas por caso.

Si estos valores se alejan significativamente de los habituales, se deben investigar las causas.

- Sucesión de resultados positivos en uno o unos pocos días de trabajo. Si se detectan, investigar si se ha producido contaminación cruzada (transferencia de bacilos desde una muestra altamente positiva a las siguientes)
- En el caso en que detecten anomalías y no puedan ser identificadas las causas, consultar al laboratorio de referencia.

Supervisión técnica indirecta de la baciloscopía.

Consiste en el envío de láminas desde el laboratorio local (supervisado) al laboratorio supervisor (centro de referencia de control de calidad de baciloscopía); y se basa en la comparación de resultados y la evaluación de la aplicación de la técnica baciloscóptica en las láminas preparadas por los laboratorios en su trabajo de rutina. Los laboratorios de los centros de referencia de control de calidad tendrán bajo su supervisión a su red local y el laboratorio nacional de referencia a los centros de referencia de control de calidad.

Conservación y envío de las láminas.

- Todos los laboratorios que efectúan baciloscopías deben conservar durante un mes la totalidad de las láminas positivas y negativas.
- Para conservar las láminas se debe quitar el aceite de inmersión con papel absorbente. Una vez limpias se debe revisar la numeración o identificación y guardarlas.
- Todas las láminas deben ser enviadas en orden correlativo en los primeros cinco días hábiles del mes siguiente cumpliendo las indicaciones del instructivo para el llenado del envío de control de calidad indirecto de baciloscopía. (anexo 5).

Evaluación de resultados de supervisión de cada lámina.

Al hacer la supervisión de cada lámina se evaluará:

- Concordancia de los resultados.
- Grosor y regularidad del extendido.
- Tinción: presencia de precipitados o cristales de fucsina, defectos de coloración y características de la tinción de fondo.

Toda la información generada en la supervisión técnica indirecta debe ser comunicada a los laboratorios supervisados mediante la elaboración de un informe.

Supervisión administrativa indirecta.

Consiste en el análisis y la evaluación crítica cuantitativa y cualitativa de la información estadística mensual para poder evaluar:

- Correlación cuantitativa y cualitativa con la información de meses anteriores.
- Proporción de baciloscopías para diagnóstico y para el control del tratamiento.
- Variaciones en la proporción de resultados positivos en las baciloscopías para diagnóstico.
- Relación entre baciloscopías de diagnóstico positivo y casos diagnosticados.
- Correlación entre baciloscopías de control de tratamiento y casos en tratamiento.

Es conveniente, que el equipo del PNTYER del nivel local, efectúe un análisis global de la información mensual para establecer las relaciones pertinentes entre las diversas actividades: localización de casos, exámenes bacteriológicos, notificación, pacientes en tratamiento, entre otros.

La supervisión es una actividad prioritaria en el PNTYER, a fin de mantener la calidad y eficiencia de la Red de laboratorios que efectúan técnicas bacteriológicas de tuberculosis, y es una responsabilidad esencial de todos los niveles de gestión. Durante

la supervisión son requeridos los registros y los resultados de control de calidad interno y externo, por lo que deben estar disponibles.

XV. SISTEMA DE REGISTRO.

El registro del laboratorio no sólo sirve para documentar los resultados del examen microscópico de las muestras; también aporta información que integrada a la producida por otros laboratorios, es útil para evaluar la situación epidemiológica.

El laboratorio debe poder investigar en sus registros:

- Sintomáticos respiratorios examinados.
- Casos diagnosticados y controlados.
- Resultado de baciloscopías de cada paciente.
- Muestras recibidas y referidas para cultivo solicitando prueba de sensibilidad y tipificación.
- Reactivos e insumos recibidos y consumidos.

Los laboratorios de la Red deben contar con los siguientes instrumentos estandarizados por el PNTYER:

- Norma Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis.
- Lineamientos Técnicos para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis por Microscopia Directa.
- Libro para el llenado del envío del Control de Calidad Indirecto de Baciloscopía.
- Solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis PCT- 3.
- Registro de actividades de laboratorio PCT- 4.
- Libro de referencia de muestras para diagnóstico de tuberculosis PCT-11.
- Los registros deben ser conservados por lo menos durante cinco años.
- La precisión en la documentación es crítica para analizar resultados, evaluar y planificar apropiadamente las actividades.

- El personal de salud al llenar los instrumentos de registro debe cumplir lo establecido en los instrumentos técnicos jurídicos del Programa de control de Tuberculosis, estar completos y contener información confiable y consistente.

XVI. Disposiciones Generales

Obligatoriedad

Es responsabilidad del personal técnico y administrativo que labora en las RIISS del Sistema Nacional de Salud, dar cumplimiento a los presentes Lineamientos técnicos, caso contrario se aplicarán las sanciones establecidas en la legislación administrativa respectiva.

De lo no previsto

Todo lo que no esté previsto en los presentes Lineamientos técnicos, se debe resolver a petición de parte, por medio de escrito dirigido a la Titular de esta Cartera de Estado, fundamentando la razón de lo no previsto, técnica y jurídicamente.

Derogatoria:

Déjase sin efecto el Manual de Procedimientos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis por microscopía directa, de noviembre de 2008.

Anexos:

Forman parte de los presentes Lineamientos técnicos, los siguientes anexos:

- 1) Anexo 1. Solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis (PCT - 3) e indicaciones de cultivo y sensibilidad.
- 2) Anexo 2. El microscopio y sus partes.
- 3) Anexo 3. Tabla de cálculo para elaborar el pedido de materiales.
- 4) Anexo 4A. Indicaciones para el llenado del libro de registro de actividades de laboratorio (PCT - 4).

- 5) Anexo 4B. Registro de actividades de laboratorio. (PCT-4).
- 6) Anexo 5A. Instructivo para el llenado del envío del control de calidad indirecto de baciloscopía y hoja de envío del control de calidad indirecto de baciloscopías.
- 7) Anexo 5B. Control de calidad indirecto de baciloscopías.
- 8) Anexo 6. Preparación de reactivos.
- 9) Anexo 7. Causas de error en la baciloscopía.
- 10) Anexo 8. Indicadores operacionales.
- 11) Anexo 9. Libro de referencia de muestras para diagnóstico de tuberculosis (PCT 11).

Vigencia:

Los presentes Lineamientos técnicos entrarán en vigencia, a partir de la fecha de oficialización por parte de la Titular.

San Salvador, a los 22 días del mes de febrero de dos mil dieciseis.



[Handwritten signature]

Elvia Violeta Menjivar
Ministra de Salud

XVI. ANEXOS.



Anexo 1

SOLICITUD DE EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS (PCT – 3)



MINISTERIO DE SALUD
PROGRAMA NACIONAL DE TUBERCULOSIS Y ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
SOLICITUD DE EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS (PCT-3)



Establecimiento: _____ Fecha y hora de recepción de la muestra en el laboratorio: _____

Nombre: _____ N° de Exp. _____ Edad: _____

Procedencia: Consulta Ext. Emergencia Hospitalización Otro _____ VIH: Reactivo No reactivo Pendiente

Dirección Exacta: _____ Tel: _____

Municipio: _____ Depto.: _____ Área: U ___ R ___ Fecha de Indicación: _____

Tipo de muestra: ESPUTO OTRA Especificar _____ Sexo: M F

EXAMEN SOLICITADO

BK EN S.R. 1ra. 2da. 3ra. PRUEBA: en equipo Gene xpert

BACIOSCOPÍA PARA CONTROL DE TRATAMIENTO ACTUAL: 1ra. 2da.

BK DE CONTROL DE MES: 2° 4° 6°
3° 5° 8° Otro

DROGAS: H R Z E S

Observaciones _____

CULTIVO PARA DIAGNÓSTICO:	CULTIVO MAS TIPIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD:
1. Alta sospecha de TB. y 3 BK (-) <input type="checkbox"/>	5.1 Fracaso <input type="checkbox"/>
2. Tuberculosis infantil <input type="checkbox"/>	5.2 Abandono recuperado <input type="checkbox"/>
3. Tuberculosis extrapulmonar <input type="checkbox"/>	5.3 Recaída <input type="checkbox"/>
4. VIH con sospecha de TB <input type="checkbox"/>	6. Contacto de caso TB/MDR <input type="checkbox"/>
10. BK con 1 a 9 bacilos en 100 campos <input type="checkbox"/>	7. Antecedente de C. penitenciario <input type="checkbox"/>
14. Paciente con diabetes <input type="checkbox"/>	8. Coinfección TB/VIH <input type="checkbox"/>
MEDIO DE CULTIVO: Löwenstein - Jensen <input type="checkbox"/>	9. No negativiza al 2° ó 3° mes de tto. <input type="checkbox"/>
Ogawa kudoh <input type="checkbox"/>	11. Migrante nacional o extranjero <input type="checkbox"/>
	12. Paciente con tto. Antituberculoso que no mejora clínicamente, aunque sus BK de control sean neg <input type="checkbox"/>
	13. Caso crónico de tuberculosis <input type="checkbox"/>

CULTIVO PARA CONTROL DE TRATAMIENTO A CATEGORÍA I II III IV

Nota: 1. No olvide que el informe de los resultados de cultivo se dará a los 30, 45 ó 60 días y nunca antes
2. LOS RESULTADOS DE LABORATORIO COLOCARLOS AL DORSO DE LA HOJA.

Nombre y firma del solicitante: _____ sello

RESULTADO: (USO EXCLUSIVO DE LABORATORIO)

1. BACILOSCOPIA:			
1ra. muestra	Positivo: <input type="text"/>	Negativo: <input type="text"/>	No. de bacilos observados en 100 campos: <input type="text"/>
2da. muestra	Positivo: <input type="text"/>	Negativo: <input type="text"/>	No. de bacilos observados en 100 campos: <input type="text"/>
3ra. muestra	Positivo: <input type="text"/>	Negativo: <input type="text"/>	No. de bacilos observados en 100 campos: <input type="text"/>
2. GENE XPRT: _____ _____			
3. CULTIVO: Positivo: <input type="text"/> Negativo: <input type="text"/>			
Resultado de sensibilidad: _____ _____			
Resultado de tipificación: _____ _____			

Observaciones: _____

Nombre y Sello: _____ Fecha de Resultado: _____

Indicaciones de cultivo (y sensibilidad).

El cultivo del *mycobacterium tuberculosis* es un examen de gran sensibilidad, pero de alto costo y complicada técnica; por lo tanto, asegúrese que su indicación se encuentre dentro de alguna de las siguientes: (encierre en un círculo el número que corresponde a la indicación)

1. Alta sospecha de TB y 3 baciloscopías negativas
2. Tuberculosis infantil
3. Tuberculosis extrapulmonar
4. VIH con sospecha de TB
- 5.1 Fracaso
- 5.2 Abandono recuperado
- 5.3 Recaída
6. Contacto de caso TB resistente a múltiples drogas (MDR)
7. Antecedente de internamiento en centro penitenciario
8. Coinfección TB/VIH
9. Falta de negativización de baciloscopía al 2° ó 3° mes de tratamiento
10. Baciloscopía con 1 a 9 bacilos en 100 campos
11. Migrante nacional o extranjero
12. Paciente con tratamiento antituberculoso que no mejora clínicamente, aunque las baciloscopías de control sean negativas
13. Caso crónico de tuberculosis
14. Paciente con diabetes



Ministerio de Salud
Programa Nacional de Enfermedades Respiratorias y Tuberculosis
Anexo 2

El microscopio y sus partes.

El microscopio que se utiliza en el laboratorio para el examen microscópico de las baciloscopías, es el microscopio compuesto de campo claro.

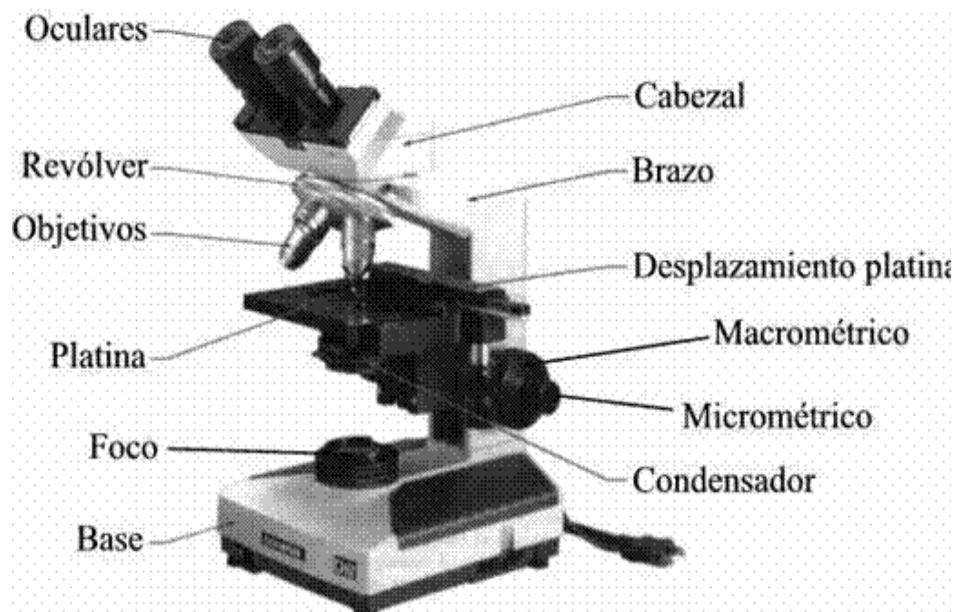
El microscopio de campo claro, consta de parte mecánica y óptica.

1- Parte mecánica:

Base o soporte del microscopio, platina, carro mecánico, tornillo macrométrico, tornillo micrométrico, brazo.

2- Parte óptica:

Oculares, objetivos, condensador, fuente de luz, prismas (dentro del tubo binocular.)





Ministerio de Salud
Programa Nacional de Enfermedades Respiratorias y Tuberculosis

Anexo 3
Tabla de cálculo para elaborar el pedido de materiales.

El cálculo de los materiales a necesitar, se hace en base al trabajo realizado en el año anterior, mientras no se hagan cambios en las actividades y metas básicas del PNTYER. El pedido se efectúa cada tres meses preferiblemente.

- Frascos recolectores 1 por baciloscopía
- Láminas portaobjeto 1 por baciloscopía
- Aplicador de madera 2 por baciloscopía
- Papel para limpiar lentes 1 por cada 10 baciloscopías.
- Solución de lejía comercial 1 garrafa por mes.
- Aceite de inmersión 1 gota = 0.05 ml por baciloscopía.
- Alcohol 90-95° para mechero 1 litro por mes.
- Lápiz grafito. 1 cada dos meses.
- Fucsina fenicada 5 ml. por baciloscopía.
- Alcohol-ácido 5 ml. por baciloscopía.
- Azul de metileno. 5 ml. por baciloscopía.
- Mascarillas N-95 1 semanal por recurso.
- Guantes 1 par diario por recurso.
- Papel toalla dos rollos mensuales.
- Embudos 1 al año por colorante.
- Pliegos de papel filtro 2 pliegos por mes.
- Lámpara para microscopio 1 por año.

- Fósforos 3 paquete por año.
- Frascos ámbar para coloración 3 cada dos años.
- Algodón 15 rollos al año.

Nota: Para los colorantes, es recomendable tener un stock de reserva de 500 ml.



Anexo 4 A
Ministerio de Salud
Programa Nacional de Enfermedades Respiratorias y Tuberculosis

Indicaciones para el llenado del libro de actividades de laboratorio (PCT 4)

- a) El presente libro de Registro de Actividades de Laboratorio (PCT-4), es un instrumento de información oficial del Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias de El Salvador, el cual debe ser adecuadamente llenado y conservado.

- b) Se considera Sintomático Respiratorio investigado a la persona mayor de diez años que presenta tos con expectoración por más de quince días de evolución, que es captado en la consulta externa, emergencia, hospitalización, centros penales o en la comunidad y que proporciona muestra de esputo para ser examinada.

- c) En este libro deben registrarse todos los sintomáticos respiratorios investigados por el laboratorio.

- d) Separar la información cada mes realizar la sumatoria para hacer los consolidados mensuales y trimestrales.

Región:

Anotar el nombre de la región a la que pertenece el establecimiento.

SIBASI:

Anotar el nombre correspondiente

Establecimiento de salud:

Anotar el nombre del establecimiento de salud correspondiente.

Laboratorista encargado/a del PCT:

Anotar el nombre del laboratorista responsable del llenado del libro, cada mes

Columna 1. Fecha:

Anotar con números el día que procesa la muestra.

Columna 2. Procedencia:

Anotar la dirección exacta del lugar de procedencia del paciente, en forma completa para facilitar el seguimiento si éste resulta ser caso positivo de TB.

En caso que las muestras sean referidas de un establecimiento que no tenga laboratorio se escribirá el nombre del establecimiento de donde procede.

Columna 3. Nombres y apellidos:

Escriba con letra legible y ordenada y de manera completa los nombres y apellidos del paciente, para facilitar su seguimiento.

Columna 4. Edad:

Anotar la edad del paciente en años.

5, 6 Sexo:

Se marca con una X el sexo correspondiente.

7. Número correlativo:

Anotar los números en forma correlativa, de acuerdo al orden de entrega de la muestra del paciente. No se deben repetir los números ni utilizar letras.

Recordar que para diagnóstico son tres baciloscopías, y para control son dos baciloscopías por paciente y cada una tiene que llevar un número diferente.

Iniciar con el número 1 el registro de baciloscopías de cada mes, siguiéndolo en correlativo hasta el final del mes.

Los números correlativos de un mismo paciente no deben ser necesariamente consecutivos. Ejemplo:

José Antonio Pérez Gómez	1	5	8
Juana Luisa Beltrán García	2	3	9

Columna 8,9 y 10: Baciloscopías diagnósticas Sintomático Respiratorio:

En esta columna anotar los resultados de las muestras con color rojo, si es positivo y el número de cruces (+) (++) (+++), si se observa de 1 a 9 bacilos, registrar el número de bacilos observados ej: 2b, 5b; si es negativo escribir con una N con cualquier otro color en la casilla según corresponda (1ra., 2da., 3ra.) muestra.

Columna 11, 12, 13: baciloscopías de control de tratamiento:

En esta columna anotar los resultados de baciloscopías de control de tratamiento de casos (al 2do., 4to. y 6to. Mes de tratamiento), con color rojo si es positivo y el número de cruces, si se observa de 1 a 9 bacilos, registrar el número de bacilos observados; si es negativo escribir una N con cualquier otro color en la casilla correspondiente. Si es retratamiento colocar resultados del control del 3ro., 5to. y 8vo. mes en columnas 11, 12 y 13 respectivamente y anotar en observación retratamiento.

Columna 14. Tipo de muestra:

Espuito (es la muestra dada de forma espontánea por el paciente).

Columna 15. Observaciones:

Anotar cualquier información que se considere importante: resultados de VIH u otra.

Es función del encargado del programa de laboratorio:

- Comparar su información con el encargado de Programa de TB del establecimiento para evaluar el número de SR que consultaron y el número de baciloscopías que se realizaron.
- Separar la información cada mes, trazando una línea roja y realizar la sumatoria para hacer los consolidados mensual y trimestral.
- Enviar al centro de control de calidad correspondiente todas las baciloscopías realizadas en el mes; para su respectivo control de calidad, durante la primera semana del mes siguiente. (Ej. Las baciloscopías realizadas en enero se enviarán la 1ª semana del mes de febrero).



Anexo 4 B
Ministerio de Salud
Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias
REGISTRO DE ACTIVIDADES DE LABORATORIO (PCT- 4)



REGIÓN: _____
 ESTABLECIMIENTO DE SALUD: _____ MES: _____ AÑO: _____
 LABORATORISTA ENCARGADO DEL PROGRAMA: _____

Fecha		Procedencia	Nombres y apellidos	Edad	Sexo		Número correlativo			Baciloscopías diagnósticas S. R.			BK de control de tratamiento			Tipo de muestra	Observaciones
No	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)			(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
					M	F	1°	2°	3°	1°	2°	3°	2da. o 3er.	4ta. o 5ta.	6ta u 8va.		



Anexo 5 A
Ministerio de Salud
Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias

**Instructivo para el llenado del envío del Control de Calidad indirecto de
Baciloscopía.**

Región: anotar el nombre de la Región a la que corresponde el establecimiento de salud

SIBASI: registrar el nombre del SIBASI correspondiente.

Establecimiento: escribir el nombre del establecimiento de donde se está enviado el control de calidad.

Mes de envío: colocar el nombre del mes en que fueron vistas las láminas en el nivel local.

Fecha de envío: apuntar la fecha en que se esta enviando el control de calidad; ejemplo si se están enviando las láminas vistas en el mes de enero en el establecimiento de salud, la fecha del mes de envío estaría entre los primeros cinco días del mes de febrero.

Total de láminas enviadas: anotar en números absolutos el total de láminas que está enviando a control de calidad; ejemplo: si el establecimiento de salud recibió 300 baciloscopías en un mes determinado, el total de láminas enviadas sería 300.

Total de láminas negativas enviadas: en número absoluto registrará el total de láminas que el establecimiento de salud ha reportado como negativas en su PCT-4; ejemplo si de 300 baciloscopías recibidas, el establecimiento de salud reportó 250 negativas, este será el número absoluto registrado en total de láminas negativas enviadas (250).

Total de láminas positivas enviadas: en número absoluto registrará el total de láminas que el establecimiento de salud a reportado como positivas (incluye de 1 a 9 bacilos) en su PCT-4; ejemplo si el establecimiento de salud de 300 baciloscopías recibidas, reporto 50 positivas, este será el número absoluto registrado en total de láminas positivas enviadas (50).

Total de S.R examinados: Colocar el número de SR examinados en el laboratorio.

Total de S.R con BK (+): Colocar el número de S.R examinados en el laboratorio con al menos una BK (+).

N° de láminas positivas enviadas: registrar los números correlativos de láminas vista como positivas y reportadas en la PCT-4 como tal; ejemplo la baciloscopía 3, 15, 35, 45, 46, 150, fueron reportadas como positivas, estas son las que se reportarán en esta columna.

Resultado por cruces: registrar el número de cruces correspondientes a cada lámina positiva +, ++, +++ (en color rojo) o el número de bacilos observados (1 a 9 b.)

Baciloscopía diagnóstica SR: con una "x" marcar si la lámina positiva corresponde a la primera (1°), segunda (2°) o tercera muestra (3°) del SR.

Baciloscopía control de tratamiento: con una "x" marcar si la lámina positiva corresponde al, 2°, 4°, 6° ó 3°, 5° y 8° mes de tratamiento.

Observaciones: Anotar cualquier cosa relevante, por ejemplo paciente VIH(+), nombre del paciente, o cualquier otro aspecto que le sea de utilidad al responsable del centro de referencia de control de calidad.

Nombre del jefe de laboratorio: anotar el nombre del jefe de laboratorio, quien deberá verificar siempre como se está enviando el control de calidad.

Responsable: nombre de la persona encargada de preparar el control de calidad para su envío.

Sello: sello del laboratorio que está enviando el control de calidad de baciloscopía.



Anexo 6
Ministerio de Salud
Programa Nacional de Tuberculosis y
Enfermedades Respiratorias

PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

1) Fucsina fenicada.

- Tres gramos de fucsina básica.
- Cien mililitros de alcohol de 95°
- 55 ml de fenol acuoso.*

Se agita y se agrega agua destilada hasta completar un litro, se deja reposar veinticuatro horas y se filtra.

(* Fenol acuoso: 100 gramos de fenol cristalizado y 10 mililitros de agua destilada, se calienta en baño de María hasta completa disolución, luego se enfría.

2) Azul de metileno.

- 1 gramos de azul de metileno.
- 100 mililitos de alcohol de 95°.
- Se disuelve por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Se deja reposar veinticuatro horas y se filtra.

3) Solución decolorante.

30 mililitro de ácido clorhídrico para análisis.

970 mililitro de alcohol de 95°.

Con una pipeta: Se deja escurrir por las paredes el ácido clorhídrico en el matraz que contiene el alcohol, luego se agita nuevamente.

Cada vez que los colorantes se utilizan deben filtrarse previamente.

CONSERVACIÓN.

Los colorantes deben conservarse en frascos de color ámbar por un tiempo no mayor de un mes.



Anexo 7
 Ministerio de Salud
 Programa Nacional de Tuberculosis y
 Enfermedades Respiratorias



CAUSAS DE ERROR EN LA BACILOSCOPIA

		Falsos positivos	Falsos negativos
Inherentes a la muestra	No representativa de la lesión.		X
	Recogida en momentos inadecuados.		X
	Cantidad insuficiente.		X
	Mal conservada (bacteriolisis)		X
Inherentes al operador	Mala selección de la partícula útil.		X
	Defectos en la realización del extendido:		
	·Extendidos finos, gruesos o poco homogéneos.		X
	·Fijación de extendido húmedo o a temperatura superior a 60°C		X
	Defectos en la realización de la coloración:		
	· Calentamiento deficiente o excesivo.		X
	· Decoloración insuficiente	X	X
	·Precipitación de cristales por uso de reactivos no filtrados o calentamiento excesivo.	X	
	·Decoloración excesiva.		X
	Defectos en la lectura:		
	· Uso de microscopios en mal estado	X	X
	·Lectura de un número insuficiente de campos		X
	· Poca capacidad para diferenciar bacilos de artificios de coloración.	X	X
· Observación de un solo nivel del extendido		X	
Transferencia de bacilos de un extendido a otro (varilla de aceite de inmersión)	X		
Confusión de muestras y/o extendidos.	X	X	
Errores en transcripción de resultados.	X	X	
Inherentes a la muestra	Límite de sensibilidad 5,000-10,000 bacilos/ml de muestras		X
	Se detectan BAAR que pueden ser no patógenos y nocardias	X	
	Hay 1 a 9 bac/100 campos		X



Anexo 8
Ministerio de Salud
Programa Nacional de Tuberculosis y
Enfermedades Respiratorias



Indicadores Operacionales de Laboratorio

Concentración de baciloscopías por SR.

$$\frac{\text{Total de BK de diagnóstico SR investigados por el laboratorio}}{(M\ 40 + M\ 42)} \times 100 \quad \text{V.E. } 3$$

Rendimiento técnico

$$\frac{\text{Total de Bk de diagnóstico positivas al SR} \times 100}{\text{Total de Bk de diagnóstico realizadas al SR}} = \frac{M40(BK+) + M42(BK+) \times 100}{M\ 40 + M\ 42} \quad \text{V.E } 5 \%$$

Nº de baciloscopías realizadas por caso

$$\frac{\text{Total de BK de diagnóstico realizadas al SR}}{\text{Total de casos BK (+) (nuevos y de retratamiento diagnosticados en el laboratorio)}}$$

Interpretación de indicadores de laboratorio:

- Concentración: mide el número de Baciloscopía realizada en promedio, por cada Sintomático Respiratorio.
- Rendimiento técnico de laboratorio: mide el porcentaje de Bk (+) del total de Bk de diagnóstico realizadas.
- Nº de Bk realizadas por caso: se obtiene el número de Bk realizadas para encontrar un caso Bk positivo, sea nuevo o de retratamiento.



Anexo 9 A

Ministerio de Salud

Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias
Instructivo para el llenado del Libro de Referencia de muestras para Diagnóstico de
Tuberculosis (PCT- 11)



El presente libro de referencia de muestras para diagnóstico de tuberculosis (PCT-11), es un instrumento de información oficial del Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias de El Salvador, el cual debe ser adecuadamente llenado y conservado.

En este libro debe registrarse el envío y resultados de todos los cultivos BAAR, pruebas Xpert MTB/RIF, confirmación de cepas, que se envían a los laboratorios de referencia.

Separar la información cada mes y totalizarlo para hacer el consolidado trimestral.

Región:

Anotar el nombre de la región a la que pertenece el establecimiento.

SIBASI:

Anotar el nombre del SIBASI correspondiente

Establecimiento de salud:

Anotar el nombre del establecimiento de salud responsable de la información

Año:

Anotar el año durante el cual se está realizando el registro

Profesional responsable:

Anotar el nombre del profesional responsable del llenado del libro. (En establecimientos con laboratorio serán los profesionales de laboratorio los encargados del llenado de las columnas correspondientes al envío con sus resultados; en los establecimientos sin laboratorio será responsabilidad del médico o enfermera encargados del programa.

Número.

Ubicar el número que le corresponde al paciente, según orden correlativo

Nombre del/la paciente:

Escriba con letra legible los nombres y apellidos completos del/la paciente, para facilitar su seguimiento. (Pueden tomarse más de una línea para escribir el nombre completo)

Edad:

Anotar la edad del paciente en años.

Dirección completa del paciente:

Anotar la dirección de procedencia del paciente, en forma completa para facilitar el seguimiento de éste.

Indicación de prueba XPERT MTB/RIF: verificar si la muestra que se envía es para realizar prueba Xpert MTB/RIF y poner motivo de indicación según flujograma.

Motivo de indicación del cultivo:

En esta columna anotar el motivo por el cual ha sido indicado el cultivo (ver indicaciones en la parte de abajo de la matriz)

Fecha de envío al laboratorio de referencia:

Anotar el día, mes y año en que fue enviada la muestra al laboratorio correspondiente, según red establecida y conocida por todos.

Nombre del laboratorio al cual se envía:

Anotar el nombre del laboratorio de referencia al cual se envía la muestra. (Ej: LNR, laboratorio hospital de San Miguel, entre otros.)

Nombre de quien recibe la muestra en el laboratorio:

La persona que recibe la muestra debe anotar su nombre completo.

Fecha de recepción de resultado:

Anotar la fecha exacta en que el establecimiento recibe el resultado del cultivo BAAR o de la prueba Xpert MTB/RIF o confirmación de crecimiento de cepa.

Nombre de la persona que recibe los resultados:

Anotar el nombre completo de la persona que recibió los resultados de la prueba.

Resultado:

Anotar el resultado del cultivo (positivo, negativo, contaminado, micobacteriosis, otros) o el resulta de la prueba Xpert MTB/RIF

Resultado de sensibilidad:

Anotar el resultado de sensibilidad, si existiera en el reporte.

Nota: Siempre que se envié muestra para cultivo BAAR, prueba Xpert MTB/RIF o referencia de cepas, llevar la PCT – 11 para que se registre el nombre de la persona que recibe dicha muestra (columna 9) y siempre que se retiren los resultados del cultivo, también llevar este libro para anotar la fecha (columna 10) y nombre de quien recibe el resultado (columna 11). Estas dos columnas deberán ser llenadas por una persona que trabaje en el laboratorio donde se realizan las pruebas diagnósticas. **Los resultados se dan por escrito y nunca vía telefónica.**



Anexo 9 B
Ministerio de Salud

Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias
Libro de registro de envío de cultivos BAAR (PCT- 11)



REGIÓN: _____ **SIBASI:** _____

ESTABLECIMIENTO DE SALUD: _____ **AÑO:** _____

PROFESIONAL RESPONSABLE: _____

No.	Nombre del paciente	Edad	Dirección completa del paciente	Indicación de GeneXpert MTB/RIF	*Motivo de indicación de cultivo	Fecha de envío a laboratorio de referencia	Nombre del laboratorio al cual se envía	Nombre de quien recibe en el laboratorio de referencia	Fecha de recepción de resultado	Nombre de la persona que recibe los resultados	Resultado	Resultado de sensibilidad
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)

* **1-** Paciente con alta sospecha de TB y 3 BK negativas **2-** Tuberculosis infantil **3-** Tuberculosis extrapulmonar **4-** VIH con sospecha de TB, **5.1-** Fracaso **5.2-** Abandono recuperado, **5.3-** Recaída **6-** Contacto de caso TB/MDR, **7-** Antecedente de centro penitenciario **8-** Coinfección TB/VIH **9-** No negativa al 2º ó 3º mes de tratamiento, **10-** BK con 1 a 9 bacilos en 100 campos, **11-** Migrante nacional o extranjero, **12-** Paciente con tratamiento antituberculoso que no mejora clínicamente, aunque sus BK de control sean negativas, **13-** Caso crónico de tuberculosis y **14-** Paciente con diabetes.

XVII. ABREVIATURA Y SIGLAS.

ADA:	Adenosin de aminasa.
BAAR:	Bacilo ácido alcohol resistente.
BCG:	Bacilo Calmette-Guerin.
BK:	Baciloscopía.
EDTA:	Ácido etiléndiamino tetraacético.
MDR:	Multidrogorresistente.
M-40:	Primera muestra del Sintomático Respiratorio.
M-41:	Baciloscopía de control de tratamiento.
M-42:	Baciloscopías sub - secuentes.
OPS:	Organización Panamericana para la Salud.
PNTYER:	Programa Nacional de Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias.
SR:	Sintomático Respiratorio.
STOP-TB:	Alto a la tuberculosis.
TB:	Tuberculosis
TAES:	Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado.
V.E:	Valor Esperado

XVIII. BIBLIOGRAFÍA.

- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Programa Nacional de Tuberculosis. Manual de Procedimientos para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis por Microscopía Directa. Noviembre 2008.
- Ministerio de Salud. Programa Nacional de Tuberculosis. Normas Técnica para la Prevención y Control de la Tuberculosis. Junio 2011.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Programa Nacional de Tuberculosis. Guía técnica para el Diagnóstico de Tuberculosis por Microscopía Directa. El Salvador, 2007.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Dirección de Regulación y Legislación en Salud. Unidad de Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”. Manual de Control de Calidad de la Red de Laboratorios de Tuberculosis, El Salvador 2004.
- Organización Panamericana de la Salud. Normas y Guía Técnica, Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Parte 1 Baciloscopía, 2008.
- Organización Panamericana de la Salud, documentos base para la adopción de los estándares internacionales para la atención de la tuberculosis, Programa Regional de Tuberculosis, Washington DC, Septiembre de 2008.
- Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (La Unión). Tuberculosis Victorino Farga, José Antonio Caminero, 3era. Edición, 2011
- Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER). Manejo de la Tuberculosis, Una Guía esencial de buenas prácticas, Sexta edición 2010.
- Ministerio de Salud. Guía para el manejo de la tuberculosis resistente, El Salvador, junio 2011.
- Ministerio de Salud. Lineamientos técnicos sobre bioseguridad, República de El Salvador, 2012.

- Ministerio de Salud. Lineamientos técnicos para la prevención y control de la tuberculosis, El Salvador, julio 2012.
- Ministerio de Salud. Módulos de capacitación TAES, El Salvador, 2013.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guía Técnica de enfermería para la prevención y control de la tuberculosis, El Salvador 2007.