



Ministerio de Salud Pública
y Asistencia Social

República de El Salvador
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Dirección de Regulación
Unidad de Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”

MANUAL DE CONTROL DE CALIDAD DE LA RED DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS

El Salvador C. A. 2004

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

AUTORIDADES

DR. JOSÉ GUILLERMO MAZA BRIZUELA
Ministro

DR. JOSÉ ERNESTO NAVARRO MARÍN
Viceministro

DR. JULIO GARAY RAMOS
Jefe de Programa Nacional de Prevención
y Control de la Tuberculosis

LIC. GUADALUPE DE GUZMÁN
Jefe Unidad de Laboratorio Central
“Dr. Max Bloch”

Presentación

En El Salvador, al igual que en muchos países del mundo, se aplica la estrategia DOTS/TAES, para la prevención y control de la tuberculosis

Para garantizar la aplicación de dicha estrategia, es necesario que existan normas, manuales, guías técnicas y otros documentos que le permitan al personal de salud tomar decisiones oportunas y confiables.

En tal sentido y con el afán de apoyar los esfuerzos del personal operativo, se pone a disposición de éste el presente **Manual de Control de Calidad de la Red de los Laboratorios de Tuberculosis**, en el que se recopila y estandariza, todos los aspectos del control de calidad.

Se espera que el Manual se convierta en una guía técnica para el personal de la red de laboratorios del país y así asegurar que el control de calidad se lleve a cabo de forma eficiente en todas sus etapas.

Es oportuno reconocer y agradecer al Proyecto Fondo Global, el esfuerzo realizado en la reproducción de este manual, a todos los profesionales que han participado para lograr el enriquecimiento del mismo, y desde luego a usted como trabajador de salud que lo utilizará, para dar atención y realizar su trabajo con calidad, para el beneficio de la población salvadoreña.



Dr. José Guillermo Maza Brizuela
Ministro de Salud

Indice

	Página
Presentación	i
Introducción	1
I. Naturaleza, ámbito de aplicación y unidad ejecutora	2
1) Naturaleza	2
2) Ámbito de aplicación	2
3) Unidad ejecutora	2
II. Objetivos	3
III. Garantía de calidad	4
IV. Control de calidad	5
a) Definición	5
b) Implantación de un programa de control de calidad	5
c) Indicadores	6
d) Sensibilidad y especificidad	7
e) Valor predictivo	7
V. Control de calidad en la toma e identificación de la muestra	8
VI. Control de calidad interno	9
1) Control de calidad interno para baciloscopía	9
2) Control de calidad interno del cultivo del M. tuberculosis	10
3) Control de calidad interno de la prueba de sensibilidad	11
VII. Control de calidad externo	12
1) Control de calidad externo indirecto	12
2) Control de calidad externo directo	13
3) Evaluación de los resultados del control de calidad	15
VIII. Condiciones de trabajo y personal	16
a) Lugar de trabajo	16
b) Personal	16
IX. Equipo	19
a) Microscopios	19
b) Refrigeradoras	19
c) Incubadoras	20
d) Centrífugas	20

e) Autoclaves	20
f) Cabina de bioseguridad	20
X. Documentos de calidad	21
a) Manual de procedimientos	21
b) Protocolo de trabajo	21
c) Registros	21
d) Formatos	22
XI. Liberación de resultados	23
a) Reporte de resultado de baciloscopía	23
b) Reporte de resultado de cultivo de M. tuberculosis	24
c) Reporte de resultado de pruebas de sensibilidad a las drogas	24
d) Reporte de la identificación de micobacterias	24
XII. Bioseguridad	25
a) Riesgo de laboratorio	25
b) Precauciones recomendadas	25
c) Actividades de mayor riesgo	25
d) Precauciones del trabajo	26
XIII. Procedimientos	27
Procedimiento N° 1 toma de muestra de esputo	27
Procedimiento N° 2 preparación del extendido	28
Procedimiento N° 3 técnica de lectura	28
Procedimiento N° 4 procedimiento para determinar la sensibilidad del medio de cultivo	29
Procedimiento N° 5 procedimiento para el control externo indirecto de la baciloscopía	29
Procedimiento N° 6 procedimiento del control externo directo	30
XIV. Glosario	32
XV. Anexos	35
Anexo N° 1 tabla de control de temperatura	37
Anexo N° 2 guía para el control de calidad directo	38
Anexo N° 3 registro de actividades de laboratorio PCT-4	43
Anexo N° 4 cabina de seguridad biológica clase II.	44
Anexo N° 5 solicitud de examen bacteriológico PCT-3	45



Introducción

La tuberculosis, enfermedad prevenible y curable, sigue constituyendo una importante amenaza para la salud pública en el país y en la Región de las Américas. Pese a que hace varias décadas que se conocen drogas y tratamientos eficaces, así como las medidas y procedimientos para su control, actualmente presenciamos un resurgimiento de la enfermedad en el ámbito mundial.

Como un hecho sin precedentes, la Organización Mundial de la Salud ha declarado a la tuberculosis una "emergencia sanitaria mundial" en 1993. Ante esta situación, el Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis ha venido desarrollando planes de acción para el efectivo control de la tuberculosis en el país, colaborando y asesorando en actividades tendientes a la vigilancia ininterrumpida de la enfermedad. Dentro de estas actividades la sección de tuberculosis de La Unidad del Laboratorio Central tiene como una de sus principales funciones el control de calidad de la red de laboratorios del país.

En general este control debe identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías relativas a todas las actividades desarrolladas

de calidad de los laboratorios de tuberculosis envuelve el monitoreo de las pruebas de diagnóstico, los medios de cultivos, reactivos, instrumentos, procedimientos, documentación, liberación de resultados y competencia del personal, para asegurar una adecuada práctica en el reconocimiento, aislamiento, identificación y caracterización del agente etiológico y su correspondiente prueba de susceptibilidad (cuando se haga necesaria como guía de la terapia y para la vigilancia epidemiológica).

El control de calidad en el laboratorio tiene como objetivo que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad y de conformidad con los límites establecidos.

Conociendo los elementos básicos que debe poseer un programa de control de calidad moderno, creemos que es de primordial importancia elaborar un manual nacional que pueda servir de guía al personal dedicado al trabajo en los laboratorios de tuberculosis, los cuales son parte de la disciplina del laboratorio clínico, ciencia en constante evolución que debe marchar a la par del progreso de la medicina moderna.

1. Naturaleza, ámbito de aplicación y unidad ejecutora.

1) Naturaleza:

La Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis desde el punto de vista de su complejidad técnica está constituida por tres tipos de laboratorios: **Tipo I o A** que son los que efectúan baciloscopías, cultivos, pruebas de sensibilidad y pruebas de identificación de micobacterias. (Unidad de Laboratorio central); el **Tipo II o B** que son los que realizan baciloscopías y cultivos; y el **Tipo III o C** que son los que realizan sólo baciloscopías.

En la actualidad la red de laboratorios de tuberculosis cuenta con lineamientos para la supervisión de los laboratorios, una guía técnica para el diagnóstico de tuberculosis por microscopía directa y un manual de procedimientos estandarizado y actualizado para el laboratorio del nivel central, así como un programa de evaluación externa del desempeño el cual se envía una o dos veces en el año a la red de laboratorios del país y un control de calidad permanente, directo e indirecto llevado a cabo por el personal de la sección de tuberculosis y por los supervisores.

Enmarcados en este contexto y conociendo los elementos básicos que debe poseer un control de calidad efectivo, se hace necesario

la elaboración de un documento que recopile, estandarice y ordene todos los aspectos del control de calidad para que sirva de guía al personal de la red de laboratorios de tuberculosis del país y de esta manera asegurar que el control de calidad se lleve a cabo en forma eficiente en todas sus etapas.

2) Ambito de aplicación:

Estos lineamientos se aplicarán a los diferentes procedimientos o ensayos que se realizan en la red nacional de laboratorios de tuberculosis para diagnosticar las infecciones causadas por el *Mycobacterium tuberculosis*.

3) Unidad ejecutora.

La aplicación del contenido de este manual será competencia del jefe de la sección de tuberculosis de la Unidad del laboratorio central, él cual con el apoyo de todo el personal de la sección y los supervisores de tuberculosis tendrán a su cargo el monitoreo y evaluación en la red nacional de tuberculosis, tanto del control de calidad directo como del indirecto.

II. Objetivos

Objetivo general:

Establecer directrices estandarizadas para asegurar la calidad en los procedimientos realizados en la red nacional de laboratorios de tuberculosis.

Objetivos específicos:

a) Velar por que la información generada por los laboratorios de la red nacional sea confiable, oportuna y reproducible.

b) Monitorear el cumplimiento de los procedimientos y metodologías estandarizadas.

c) Brindar al personal conceptos de calidad que sean incorporados en su rutina diaria.

d) Establecer recomendaciones generales sobre la dotación de equipos y condiciones adecuadas para los laboratorios de micobacterias.

III. Garantía de calidad

Todas las organizaciones en general tienen como uno de sus principales objetivos mejorar la competitividad y para cumplir estos han de implantar, programas y técnicas que fomenten la mejora de la calidad de los productos o servicios que ofrecen. Además, han de buscar técnicas que mejoren también la productividad de sus procesos.

La Garantía de Calidad, es un concepto un tanto más difícil de cuantificar que el control de calidad, ya que su foco es el impacto de las pruebas de laboratorio en el cuidado del paciente. Este concepto incluye entrenamiento y calificación del personal, evaluación de los reportes, rapidez y seguridad diagnóstica, certificación de los laboratorios, controles externos, etc. El control de calidad y la garantía de calidad son similares en sus propósitos, aunque su significado y su manera de funcionar sean diferentes; sin embargo, ambos conceptos deben desarrollarse interactivamente durante un programa de control de calidad.

El programa de garantía de calidad para la red de laboratorios de tuberculosis debe ir

orientado a proporcionar confianza en que se cumplirán los requisitos de calidad y debe contener un proceso de vigilancia eficaz y sistemático de todo el trabajo de laboratorio: pre analítico, analítico y post analítico; debe ser cotejado con las normas, las cuales definen lo que se puede considerar como pruebas aceptables. Incluir además la incorporación del Manual de Procedimientos, validación de metodologías y equipos, evaluación de los reportes, oportunidad en la respuestas, desarrollo de ciclos de educación continuada que incorporen una cultura de calidad en todo el personal que trabaja en esta red, así como elementos de bioseguridad y un control sobre los reportes generados.

La implantación de un sistema de garantía de calidad efectivo trae consigo detección temprana de los errores, la mejora de la precisión y la exactitud, el uso eficiente y efectivo de los recursos, permite cumplir con requerimientos de inspección y certificación, mide la productividad y permite el desarrollo de procedimientos exactos y de manuales concisos.

IV. Control de calidad

a) Definición.

El control de calidad se define como la parte de la gestión de la calidad orientada al cumplimiento de los requisitos de calidad, éste es uno de los tres procesos básicos de gestión mediante los que se gerencia la calidad. Los otros dos son la planificación de la calidad y la mejora continua.

El control de calidad en el laboratorio tiene como objetivo, que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad de conformidad con límites ya establecidos.

b) Implantación de un Programa de control de calidad

Para implantar un programa de control de calidad hay que seguir los siguientes pasos:

- Elegir qué controlar.
- Determinar las unidades de medición.
- Establecer el sistema de medición.
- Establecer los estándares de funcionamiento.
- Medir el funcionamiento actual.
- Interpretar la diferencia entre lo real y el estándar.

- Tomar acción sobre la diferencia.
- Mejora continua.

Debido a que la mayoría de los resultados en microbiología son producto de interpretaciones y evaluaciones de reacciones bioquímicas de seres vivos, donde la capacidad y experiencia del evaluador tienen un gran valor, los cálculos de coeficientes de variación y desviaciones estándares que son parte de funciones analíticas, tienen poca aplicación en el laboratorio de microbiología. Es por ello que algunos expertos consideran que el control de calidad en microbiología es más un arte que una ciencia.

El programa de control de calidad debe evaluar y documentar el desempeño de todos los aspectos de un procedimiento. Esto incluye la calidad de la muestra, la eficiencia de los reactivos, medios e instrumentos. El control de calidad en resumen, es un elemento vital en el laboratorio, ya que ayuda en la confiabilidad de las pruebas, su reproducibilidad, asegura la calidad de los materiales, reactivos y equipos empleados, mejora la autoconfianza del personal, detecta fallas que pueden reflejarse en el informe de resultados y en general provee un entorno de excelencia en todos los aspectos del trabajo.

El programa de control de calidad de bacteriología de la tuberculosis debe contar con los siguientes elementos mínimos:

- Establecimiento del sistema de medición.
- Estandarización de las metodologías.
- Manual de procedimientos.
- Evaluación y capacitación del personal.
- Controles internos.
- Controles externos (indirectos y directos).
- Documentación y control de resultados.

c) Indicadores.

% de sintomáticos respiratorios examinados por el laboratorio.

Sintomáticos examinados X 100 Valor esperado= 5 - 7%
 Total de consulta 1° vez de 10 años

Índice de positividad en sintomáticos respiratorios.

Casos de Tb BK (+) X100 Valor esperado= 5%
 # SR examinados por el laboratorio

Concentración de baciloscopías por sintomático respiratorio.

Total de baciloscopías de diagnóstico Valor esperado = 3
 SR examinado por el laboratorio

Rendimiento técnico.

de baciloscopías (+) de diagnóstico X 100 Valor esperado = >5 %
 # Total de baciloscopías de diagnóstico

% de casos con confirmación bacteriológica.

Casos de Tb. Pulmonar baciloscopía (+) X 100 Valor esperado = 60 – 70%
 Casos de Tb pulmonar

% de pacientes sin confirmación de diagnóstico de laboratorio.

Casos no examinados por baciloscopía X 100 Valor esperado = 0%
 Casos de Tb pulmonar

Numero de BK realizados por caso.

Total de BK de diagnóstico realizados al S. R.
 Total de casos BK positivos

% de falsos positivos.

de láminas falsas (+) X 100 Valor esperado = 0.5 – 1%
 Total de láminas positivas

% de falsos negativos.

Número de láminas falsas (-) X 100 Valor Esperado de 0.5 – 1 %
 Total de láminas negativas

d) Sensibilidad y especificidad.

La **sensibilidad**, es la capacidad que se tiene de detectar las muestras verdaderamente positivas.

La **especificidad**, es la capacidad de detectar muestras verdaderamente negativas.

La sensibilidad y la especificidad son valores porcentuales calculados a través de las siguientes fórmulas:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Muestras verdaderamente positivas}}{\text{Verdaderamente positivas} + \text{falsas negativas}} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Muestras verdaderamente negativas}}{\text{Verdaderamente negativas} + \text{Falsas positivas}} \times 100$$

Una prueba será más sensible cuando presente menos resultados falsos negativos y más específica cuando presente menos resultados falsos positivos.

e) Valor predictivo

Valor predictivo positivo es la probabilidad de que un resultado positivo indique con exactitud la presencia del agente etiológico.

Valor predictivo negativo es la probabilidad de que un resultado negativo indique con exactitud la ausencia del agente etiológico.

Los valores predictivo positivos y negativos pueden ser expresados en valores porcentuales y calculados a través de fórmulas como las siguientes:

$$\text{Valor Predictivo Positivo} = \frac{\text{Muestras positivas}}{\text{Muestras positivas} + \text{falsas positivas}} \times 100$$

$$\text{Valor Predictivo Negativo} = \frac{\text{Muestras negativas}}{\text{Muestras negativas} + \text{falsas negativas}} \times 100$$

Los valores predictivo de una prueba varían de acuerdo con la prevalencia de la enfermedad o infección. Cuanto mayor sea la prevalencia mayor será el valor predictivo positivo y por consecuencia, menor el valor predictivo negativo. De esa misma forma, cuanto menor es la prevalencia, menor será el valor predictivo positivo y mayor el valor predictivo negativo.

V. Control de calidad en la toma e identificación de la muestra

En términos de la efectividad del laboratorio, nada es más importante que la apropiada selección, colección e identificación de las muestras clínicas; por ello todo el personal que tiene que ver con estas responsabilidades debe comprender lo determinante que es el mantenimiento de la calidad de la muestra, en la evaluación e informe de un espécimen clínico. Es responsabilidad del laboratorio proveer ésta información en forma clara y debe estar contenida en los manuales de procedimientos del laboratorio para que sea fácilmente incorporada en la metodología de trabajo de todas las personas involucradas en esta actividad, por lo que debe también estar siempre accesible a todo el equipo de salud.

Las muestras utilizadas para la investigación del *Mycobacterium tuberculosis* pueden ser: expectoración, orina, líquido cefalorraquídeo, pleural, ascítico y otros, pus de cavidad abierta y biopsias. La expectoración es la muestra por excelencia para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en la cual se obtienen resultados confiables con el examen microscópico directo (Baciloscopía), todas las demás muestras deben ser procesadas por cultivo.

Debe controlarse la obtención de una buena muestra siguiendo los procedimientos estandarizados tanto en la toma, el número

y la cantidad de muestra, como en el uso del frasco. Una buena muestra de esputo es la que proviene del árbol bronquial, recogida después de un esfuerzo de tos y no exclusivamente de la faringe o aspiración de secreciones nasales o de saliva solamente (ver procedimiento N° 1).

Las normas del programa recomiendan analizar tres muestras por cada sintomático respiratorio, ya que una sola muestra no es conveniente debido a que la cantidad de bacilos eliminados en los esputos es variable. La primera muestra debe recolectarse durante la primera entrevista, la segunda una muestra matinal recolectada por el paciente y la tercera durante la segunda entrevista.

El envase para recolectar la muestra debe ser de plástico, transparente, de fácil rotulación, con capacidad de 35 a 40 ml, rígido de modo que no se aplaste durante el traslado, tener boca ancha y tapón de rosca de modo que no permita derrames y contaminaciones.

Para la identificación de la muestra se debe hacer en el cuerpo del envase y no en la tapadera y la identificación debe corresponder a la de la solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis PCT-3. Todos los laboratorios harán la identificación de la muestra siguiendo el procedimiento estandarizado.

VI. Control de calidad interno

1) Control de calidad interno para baciloscopía:

Éste es un elemento indispensable dentro del control eficaz de la tuberculosis y concierne a todo el proceso; básicamente el control interno de calidad para la baciloscopía deberá centrarse en la valoración de cinco apartados: 1) Preparación del extendido 2) Los reactivos de la tinción 3) El procedimiento de la tinción 4) la lectura de la lámina y 5) informe del resultado.

a- Control de calidad en la preparación del extendido.

Debe controlarse la técnica del extendido siguiendo las indicaciones del procedimiento estandarizado y con el cuidado que la muestra forme una película uniforme que cubra las dos terceras partes de la lámina (ver procedimiento N° 2).

b- Control de calidad de colorantes para Zielh-Neelsen.

Cada vez que se prepare alguno de los colorantes para la coloración de Zielh-Neelsen, se debe comprobar la capacidad de tinción para los bacilos ácido-alcohol-resistente; realizando dicha coloración a extendidos preparados de muestras positivas

y observando si existe buena coloración del bacilo y del material de contraste.

c- Control de calidad del procedimiento de la tinción.

En cada serie de coloración de Zielh-Neelsen, se debe incluir un extendido preparado de muestras positivas para verificar el proceso de coloración y la intensidad de la coloración de los organismos ácido-alcohol-resistentes. Las extensiones y tinciones se realizarán igual que en cualquier muestra clínica.

Los resultados deberán registrarse. Cuando estos no sean correctos se debe revisar el procedimiento y los reactivos.

d- Control de calidad en la lectura de la muestra.

Durante la lectura de la muestra con el objetivo 100x, debe controlarse la calidad de la muestra, del extendido y de la tinción (ver procedimiento N° 3).

e- Control de calidad del informe del resultado.

Este se encuentra desarrollado en el capítulo XI de este manual.

2) Control de calidad interno del cultivo del *Mycobacterium tuberculosis*.

La calidad del medio de cultivo, consiste en valorar el rendimiento del medio en la recuperación de micobacterias. Esto es aconsejable hacerlo en cada nuevo lote de medios preparados en el propio laboratorio. Los medios comerciales deberán tener un certificado de la calidad del mismo y, por ello, en un principio, no sería necesario controlar de nuevo este aspecto en el laboratorio.

Todos los laboratorios que realicen cultivo para aislar el *Mycobacterium tuberculosis*, deben cumplir con el siguiente control de calidad.

a- Control de temperatura de las estufas.

Debido a que la temperatura óptima para el crecimiento de las micobacterias está entre 35°C – 37°C, se hace indispensable mantener una vigilancia constante de la temperatura de las estufas en que se guardan los cultivos. Este control debe hacerse en forma diaria a primera hora de la mañana, anotando en una hoja de registro el valor (anexo N° 1).

2- estado del coagulador:

Cualquiera que sea el tipo de coagulador que se use, debe mantener en su interior una temperatura uniforme en un rango de 80°C a 85°C. En algunas ocasiones los coaguladores tienen una temperatura más alta cerca de sus paredes y los tubos de los extremos sufren un sobrecalentamiento.

c- Control de calidad del medio de cultivo para *Mycobacterium tuberculosis*.

Un medio que ha sido preparado siguiendo correctamente las instrucciones establecidas tendrá una sensibilidad aceptable. (Ver procedimiento No. 4)

Si en algún lote se encuentra disminución importante de la sensibilidad del medio, deben controlarse:

- Esterilidad del medio. Esencial para poder descartar que el crecimiento obtenido, es realmente, de la muestra y no del propio medio con posible contaminación. Para el control de esterilidad se deberá de incubar a 35° - 37° C durante 2 días un tubo del medio de cada nuevo lote que se inicie.
- Color del medio de cultivo, presencia de deshidratación y fecha de vencimiento.
- Limpieza de los tubos: antes de entubar el medio es necesario estar seguro que los tubos están bien limpios. No basta que estén estériles, porque los restos del medio ya usados alteran la calidad del nuevo.
- Alcalinidad de los tubos: esto influye desfavorablemente en la composición del medio, por ello al adquirir tubos hay que asegurarse que sean de vidrio pH neutro. Es frecuente también observar tubos alcalinizados, (el medio adquiere color blanco en la parte que está en contacto con el tubo) porque se lavan con soluciones detergentes que tienen alta concentración de soda. Para evitar esto es necesario enjuagarlos en una solución al 1% de ácido

clorhídrico y luego al menos dos veces en agua destilada.

- Calidad de los huevos: los huevos deben ser frescos, al menos de una semana, preferentemente de gallinas en cuya alimentación se incluye el pasto verde. Los más recomendados son los obtenidos en granja.
- Calidad de las sales y glicerol: deben emplearse solo productos para uso bacteriológico.
- Control de la balanza: debe ser permanentemente controlada para obtener el peso correcto de los productos utilizados. Antes de ejecutar alguna operación para obtener el peso de algún reactivo, la balanza debe ser calibrada con pesas patrón

preferiblemente las de menor peso (200 mg) para asegurar la sensibilidad de la balanza.

3) Control de calidad interno de la prueba de sensibilidad

a- Control de calidad del medio con drogas para las pruebas de sensibilidad.

Cada nuevo lote de medio preparado con drogas antituberculosas, debe ser controlado en lo que se refiere a actividad de las drogas, con el objeto de descubrir cualquier error cometido. Se realiza una prueba de sensibilidad a las drogas con la cepa patrón HRV37 ya que esta cepa tiene una sensibilidad conocida.

VII. Control de calidad externo

El control de calidad externo puede ser indirecto o directo.

1) Control de calidad externo indirecto.

Es aquel que se efectúa a distancia, basándose en alguna de las siguientes modalidades:

- Envío de láminas o muestras de resultado conocido desde el evaluador al evaluado: **control de calidad externo indirecto técnico de centro a periferia.**
- Estudio simultáneo de la misma muestra en la periferia y el centro: **control técnico simultáneo.**
- Envío de láminas o muestras de resultado conocido desde el evaluado al evaluador: **control de calidad externo indirecto técnico de la periferia al centro.** Esta modalidad es la más aceptable desde el punto de vista operacional y constituye el control de calidad técnico indirecto.
- Análisis crítico, cualitativo y cuantitativo, de la información estadística y de los índices bacteriológicos: **control de calidad externo indirecto administrativo.**

El control de calidad indirecto técnico y administrativo está adquiriendo prioridad en la mayoría de los países. La sospecha de

deficiencias a partir de este tipo de control de calidad debe determinar la necesidad de un control de calidad directo.

a- Control de calidad externo indirecto de la baciloscopía.

Consiste en la comparación de resultados y la evaluación técnica indirecta de láminas de baciloscopía preparadas por los laboratorios en su trabajo de rutina. Los laboratorios de nivel intermedio tendrán bajo su cargo a su red local, y el laboratorio central a los de nivel intermedio (ver procedimiento N° 5). En esta evaluación se debe tener en cuenta:

- Calidad de muestra.
- Extendido.
- Coloración.
- Concordancia cualitativa y cuantitativa de lecturas.

b- Control de calidad externo de los colorantes para zielh – neelsen.

Los laboratorios que preparan sus propios colorantes y los que los compran a casas comerciales, deberán enviar al Laboratorio Central una muestra de los colorantes para hacerle su respectivo control de calidad.

c- Control de calidad externo indirecto de las pruebas de sensibilidad.

Estas serán controladas por un Laboratorio Supranacional de Referencia (Instituto Nacional de Salud Pública de Chile), cada 3 ó 4 años a fin de descubrir posibles cambios que hayan pasado inadvertidos en la modalidad del crecimiento de las cepas.

d- Control de calidad externo indirecto administrativo.

Consiste en el análisis y la evaluación crítica cuantitativa y cualitativa de la información estadística mensual que deben entregar todos los laboratorios que efectúan técnicas bacteriológicas de la tuberculosis. Como esta información puede variar en cada país, se destaca a continuación el análisis de las variables más importantes.

- Oportunidad de la entrega de la información: una irregularidad en el envío de la información, puede indicar interrupción de las actividades ó exceso de trabajo y falta de tiempo para su envío.
- Correlación cuantitativa y cualitativa con la información de meses anteriores.
- Consistencia de actividades: sí bien pueden existir variaciones estacionales que justifiquen altibajos en las actividades, ellas pueden también deberse a problemas en el servicio, tales como disminución en la búsqueda de casos ó deficiencias en el laboratorio.
- Proporción de baciloscopías para diagnóstico y para control de tratamiento.
- Variación en la proporción de positividad en las baciloscopías de diagnóstico: un aumento en la proporción puede significar una búsqueda muy dirigida; una disminución puede significar un aumento excesivo del -

trabajo en el laboratorio con escaso rendimiento.

- Relación entre baciloscopías de diagnóstico positivas y casos diagnosticados.
 - Relación entre baciloscopías de control de tratamiento y casos en tratamiento.
- Es conveniente que el equipo del nivel intermedio efectúe un análisis global de la información mensual del programa para establecer las relaciones pertinentes entre las diversas actividades: localización de casos, exámenes bacteriológicos, notificación, enfermos en tratamiento, etc. No se debería requerir ninguna información que no se vaya a analizar y comunicar adecuadamente.

2) Control de calidad externo directo.

Consiste en la visita a los laboratorios de la red para observar directamente las condiciones de trabajo y los procedimientos técnicos y administrativos. Por su contacto personal es más rápida y efectiva y permite adoptar decisiones en el terreno (ver procedimiento N° 6). Su utilización puede seguir las siguientes prioridades:

- Discrepancias o deficiencias técnicas reiteradas en un laboratorio, detectadas por control de calidad externo indirecto técnico.
- Errores u omisiones importantes y repetidos, cuya existencia se sospeche por el control de calidad externo indirecto administrativo.
- Laboratorios que recién implementan la técnica de la baciloscopía o cuando se incorporan personas recién capacitadas.
- Actividad regular y periódica.

Si el control de calidad se lleva a cabo en forma sistemática, es recomendable programarla con anticipación y en lo posible en coincidencia con las visitas del equipo de tuberculosis o de otros equipos de salud, a fin de aprovechar mejor los recursos de movilización (anexo N° 2).

a- Control de los aspectos generales del laboratorio.

En este control se deben observar los siguientes aspectos:

- Local: independiente o incluido en el laboratorio general, deben observarse las condiciones generales de trabajo y la disposición para efectuar la bacteriología en las mejores condiciones, suficiencia o no de espacio, iluminación, ventilación, instalaciones de luz, agua, gas, movimiento de personas, condiciones de asepsia, orden y aseo.
- Personal: categoría profesional; conocimientos sobre el Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis (PNCT); dedicación exclusiva o parcial a la bacteriología de la tuberculosis; suficiencia o no de horas de labor; actitud ante la visita de control y observancia de las medidas de bioseguridad.
- Materiales y Equipos: estado y uso de microscopio, autoclave, cámara o estufa de cultivo, agitador, centrífuga, esterilizador de asas, coagulador, refrigerador, provisión de envases, láminas, aplicadores, frascos de reactivos, etc.
- Medidas de Bioseguridad:
Del personal: baciloscopía en caso de síntomas respiratorios; radiografía de tórax en los establecimientos donde exista el equipo.
Del ambiente: determinación del área contaminada, uso de antisépticos, uso de gabacha, guantes y mascarilla para trabajos en el área contaminada.
- Organización interna: disponibilidad de manuales técnicos o de normas de procedimientos.
- Coordinación con otros servicios: lugar de procedencia de las muestras, condiciones de recepción, indicación al enfermo sobre la toma de muestras, lugar señalado para la toma,

tiempo de entrega de resultados, recepción de resultados, conservación de muestras, sistema de derivación de muestras para efectuar técnicas más complejas.

b- Aspectos técnicos.

Baciloscopía: en general es conveniente observar todas las etapas de la técnica:

- Muestra: sistema de recolección, envase, cantidad, calidad, número, identificación, tiempo transcurrido entre la recepción de la muestra y la ejecución del extendido, calidad de las láminas.
- Extendido: elección de la partícula útil, identificación de láminas, grosor, tamaño y homogeneidad del extendido.
- Coloración: estado de los reactivos, procedimiento de coloración, calentamiento de la fucsina, lavado, decoloración y coloración de fondo.
- Lectura e informe: técnica de observación; número de campos observados; informe según normas.
- Conservación de láminas positivas y negativas para el control de calidad indirecto. Análisis de control de calidad de baciloscopías previas.

3- Aspectos administrativos.

- Sistema de registro: libro de registro de actividades de laboratorio (PCT-4), llenado completo de los datos, numeración correlativa mensual de exámenes, comparación de la información con el PNCT (anexo N° 3).
- Resultados de laboratorio: oportunidad de la entrega de resultados al paciente, al médico o a la enfermera. Estos se harán a las 72 hrs después de haber recibido la muestra.
- Información estadística: entrega oportuna

de la información, interpretación adecuada de los datos solicitados, análisis cualitativo y cuantitativo de la información, correlación con los datos del programa.

- Nómina de casos positivos: entrega oportuna a enfermería; una vez realizado el diagnóstico.
- Verificación de la disponibilidad de manuales de procedimientos administrativos para los laboratorios de bacteriología de la tuberculosis.

Para ejercer este control externo es preciso tener normas técnicas y operacionales establecidas, en las que se haya capacitado al personal; y tener estimaciones cuantitativas de las actividades a realizar por los establecimientos de salud.

El control de calidad directo es una actividad prioritaria en el PNCT, para poder mantener la calidad y constituye una responsabilidad esencial de los niveles central e intermedio de los mismos.

3) Evaluación de los resultados del control de calidad

a- Evaluación de los resultados del control de calidad indirecto.

- Una vez realizado el control de calidad se elaborará un informe, en el cual se detallarán las láminas revisadas y su resultado; el número total de láminas enviadas por el laboratorio controlado y el número de láminas revisadas. Se detallará una pequeña evaluación de las láminas y las recomendaciones en caso que fuera necesario.
- Si se constata un porcentaje importante de láminas con defectos técnicos (muestra, extendido o coloración), se debe hacer notar en observaciones, sugiriendo la

probable razón del error, sus consecuencias y la forma de solucionarlo.

- Si se observa tendencia a informes cuantitativos de lecturas más bajas o más altas que las del laboratorio evaluador, se debe hacer notar.

En caso de observar discordancias cualitativas (falsos positivos o negativos), se debe releer minuciosamente la lámina en un número mayor de campos, procurando agotar las posibilidades de error. Si al cabo de esta segunda lectura, persiste la diferencia, se guardará la lámina, o bien se enviará al laboratorio supervisado.

b- Evaluación general del control de calidad indirecto.

Es conveniente evaluar cada seis meses o anualmente los resultados del control técnico indirecto para cada servicio, de acuerdo al siguiente esquema:

- # de láminas enviadas por el establecimiento
- # de láminas controladas
- # de láminas negativas controladas
- # de láminas falsas negativas
- # de láminas positivas controladas
- # de láminas falsas positivas
- % de Falsos positivos % de Falsos negativos
- .

Valor de error considerado como aceptable = 0.5 – 1%. Es conveniente diferenciar los errores falsos negativos de acuerdo a que sean: Lámina con 1 – 4 Bacilos Alcohol Acido Resistentes y es reportada negativa; a diferencia de lámina positiva +, ++ o +++ y es reportada como negativa, siendo en esta última el error mayor. En el primer caso, se puede esperar un alto porcentaje de discordancia, mientras que en el segundo caso la coincidencia de ambas lecturas debe ser en un 100%. Toda la información generada

en el control indirecto técnico debe ser comunicada inmediatamente al encargado del PNCT en los servicios de salud.

c- medidas correctivas a seguir frente a discordancias y deficiencias técnicas encontradas en el control de calidad indirecto.

La repetición de discordancias de alto grado (+, ++, +++/ negativo) debe ser motivo de un inmediato readiestramiento de la persona responsable de las baciloscopías, ya sea por un control directo o por pasantía en el laboratorio evaluador. El hallazgo de discrepancias ó deficiencias técnicas en un laboratorio local, debe determinar de manera prioritaria que se cumpla en él un control de calidad directo, en el cual se hará una revisión detallada de todas las etapas de los procesos para determinar las causas que originaron las discordancias. La causa más frecuente que origina las discrepancias o deficiencias técnicas es la falta de acuciosidad y readiestramiento del personal, por lo que el evaluador deberá proponer su adiestramiento a las autoridades correspondientes. Cuando

se encuentre una discordancia debe solicitarse al laboratorio, al cual se le hace el control de calidad, que revise sus registros, a fin de descartar errores de identificación o transcripción. En caso de corresponder a una “discordancia comprobada”, se solicitará comunique la novedad al responsable del programa en su servicio, a fin de revertir las indicaciones si así fuera necesario.

d- Evaluación del control de calidad directo.

La evaluación del control de calidad directo se hace promoviendo una reunión con las personas involucradas, para presentar las anomalías en base a los puntos observados durante la visita efectuada y discutir las posibles soluciones en común acuerdo, para que estas tengan mayor posibilidad de ser implementadas.

Posteriormente se hará un informe que contenga las observaciones encontradas, las posibles soluciones y recomendaciones. De este informe se enviará copia a las autoridades pertinentes según jerarquías establecidas y al jefe del laboratorio visitado.

VIII. Condiciones de trabajo y personal

a) Lugar de trabajo

El lugar donde se realicen los análisis para *Mycobacterium tuberculosis* debe tener suficiente iluminación, ventilación, instalaciones de energía eléctrica, agua, gas, lugar para la circulación de las personas; todo esto en condiciones de orden, aseo, libre de polvo y humedad; es importante que el ambiente sea propicio para la concentración en el trabajo sin factores que distraigan la atención. El laboratorio para baciloscopia debe incluir por lo menos tres espacios, uno bien iluminado para la preparación y tinción del frotis, uno para la microscopía y uno para el registro y almacenamiento. Este espacio debe contar: con un lava manos, un lava trastos, una silla de laboratorio ergonómica cuya altura se pueda regular, tres mesas de fácil limpieza con superficies impermeables y resistentes a ácidos y álcalis, una dividida en dos para la preparación del frotis y para la tinción, la segunda para el examen microscópico y la tercera para el registro y almacenamiento de frotis.

Cuando se haga cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* es necesario poseer además de lo anterior un área adecuada para la cabina de bioseguridad clase II tipo A, una mesa

firme para la centrífuga, una centrífuga con rotores o cestillos de seguridad que proteja de los aerosoles, una estufa bacteriológica, un coagulador y aire acondicionado independiente sin recirculación de aire. Se deben usar símbolos que indiquen sobre el peligro de contaminación biológica y tener a la mano los equipos de protección individual y colectiva.

Programa de limpieza

El programa de limpieza es similar al del laboratorio general de microbiología. Sin embargo, la limpieza de las mesas u otras zonas donde se manejen cultivos de micobacterias se debería realizar con lejía comercial al 10% , fenol al 5% o etanol al 70% en superficies metálicas. Otros desinfectantes no destruyen de forma tan eficaz las micobacterias.

b) Personal.

Los recursos humanos desempeñan un papel trascendental en los laboratorios y por tanto debe considerarse como un aspecto prioritario la planificación de los mismos y su desarrollo. Se debe procurar la actualización permanente del personal para evitar los errores que ocurren por falta de información y se debe mantener

registro apropiado de las actualizaciones y capacitaciones de cada persona.

El personal que realice pruebas para el diagnóstico de la infección del Mycobacterium tuberculosis debe ser personal técnico calificado y debe tener el debido entrenamiento específico en las pruebas que va a realizar, para poder obtener un buen desarrollo en su trabajo, también debe tener el conocimiento del riesgo que enfrenta en la manipulación de las muestras, y de esta manera poder aplicar las medidas de bioseguridad correspondientes.

Cuando se contrate personal nuevo, se debe tener definida la descripción del puesto de trabajo para el que se requiere, para poder tener el perfil de la persona incluyendo la educación y experiencia requerida. Una vez seleccionado el candidato debe dársele una fase de inducción y entrenamiento. Los profesionales para cumplir con la función de evaluador de la calidad de los laboratorios de tuberculosis deben tener los siguientes requisitos:

1. Conocimiento sólido y actualizado, sobre los aspectos técnicos y operacionales del PNCT en general y de las actividades bacteriológicas en particular; de la realidad

de la región, de las características de la población y del manejo administrativo.

2. Experiencia en el terreno: conocer las condiciones en las que se ha de desempeñar quien deba realizar el trabajo en los Servicios de Salud.
3. Interés por el trabajo que va a realizar.
4. Buenas relaciones interpersonales.
5. Flexibilidad y experiencia para analizar los problemas y plantear medidas correctivas adecuadas, prácticas y sencillas.
6. Sensibilidad a las necesidades en cada situación.
7. Experiencia que le permita advertir situaciones que no son las habituales.
8. Disponer de tiempo y movilidad para desplazarse a los niveles locales.

Los evaluadores más calificados son aquellos que han tenido experiencia de trabajo en todos los niveles de laboratorios de la red; y serán quienes mejor interpreten las realidades y necesidades.

IX. EQUIPO

Un programa de mantenimiento preventivo es esencial para asegurar la exactitud y longevidad del equipo del laboratorio. El Jefe del laboratorio es responsable por el programa, recayendo en el jefe de la sección la responsabilidad primaria en su área de trabajo. Puede en algunos casos relegar la responsabilidad en el departamento de biomédica de la institución o coordinar con la casa suministrante del equipo, el programa de mantenimiento.

El laboratorio debe tener instrucciones del uso del equipo y estar incluidos en el manual de operación, deben ser redactados en forma clara y en el idioma de los usuarios, inclusive debe incluir la documentación del entrenamiento del personal. Cada equipo debe contener un manual que incluya las precauciones de seguridad y los procedimientos de limpieza y cuidado del instrumento. Este manual además debe contener instrucciones básicas para resolver problemas menores y un récord de incidencias, que incluya el tipo de problema, los pasos tomados para resolverlo y la acción correctiva para evitarlo en el futuro.

También es necesario cumplir los siguientes aspectos:

Calibración del Instrumento : Los equipos que requieren un exacto nivel de precisión para obtener un resultado seguro, requieren de una calibración periódica. La fecha de la calibración, frecuencia y resultado, deben ser

mantenidos en un libro récord dentro del laboratorio.

Control de calidad del equipo: Todo equipo debe ser evaluado por un programa de control de calidad en base a las instrucciones del proveedor y las regulaciones internas del laboratorio. Debe mantenerse un libro récord de todo lo realizado al respecto, con el nombre del instrumento, fecha, resultado y comentarios.

El chequeo periódico recomendado es importante para minimizar el daño o la necesidad de servicio y reparación, en el siguiente equipo

a) Microscopios :

Cuidados y mantenimiento diario, mensual, semestral

1. Limpieza del aceite de objetivos, condensador, etc.
2. Apagar la fuente de luz.
3. Colocar cobertor contra el polvo.
4. Limpieza de ocular, condensador y diafragma con líquido de limpieza de lentes.
5. Limpieza y ajuste del sistema óptico.
6. Limpieza y ajuste del sistema lumínico.
7. Limpieza y lubricación del sistema mecánico.

b) Refrigeradoras

- 1- Control diario de la temperatura.

- 2- Mantener la temperatura entre 4° C y 8° C.
- 3- Utilizar refrigeradoras que no hagan escarcha.
- 4- No colocar medios de cultivo aún ligeramente calientes.
- 5- Evitar abrir con frecuencia la puerta de la refrigeradora.
- 6- No guardar alimentos en refrigeradoras para muestras clínicas.

c) Incubadoras

- 1- Controlar diariamente la temperatura de las incubadoras y anotar en una hoja control.
- 2- Observar el termostato por cualquier alteración en su posición preestablecida.
- 3- El jefe de sección debe ser notificado cuando una incubadora falla al no mantener el rango de temperatura aceptable.
- 5- Todas las incubadoras deben limpiarse mensualmente y llevar un récord de mantenimiento preventivo.

d) Centrífugas :

- 1- Verificar que los tubos no tengan rajaduras.
- 2- Verificar que no existan restos de vidrio o líquido dentro del porta tubo o las copas.
- 3- Limpieza de cualquier derrame.
- 4- Limpieza externa.
- 5- Desinfección del depósito del rotor.
- 6- Chequear por balance apropiado.
- 7- Asegurar que la centrífuga esté sobre una superficie plana.
- 8- Verificar el interior de los porta tubos.
- 9- Siempre que sea posible utilizar tubos de plástico.

e) Autoclaves :

- 1- Examinar el récord de temperatura y

presión.

- 2- Utilizar indicadores de esterilización.
- 3- Chequear el nivel de agua.
- 4- Usar indicadores biológicos de esterilidad.
- 5- Chequear la válvula de seguridad.
- 6- Limpiar el interior y exterior.
- 7- Limpiar la pantalla de temperatura.
- 8- Limpiar el drenaje y sellos.

f) Cabina de bioseguridad .

- 1- Apagar la lámpara ultravioleta antes de comenzar a trabajar.
- 2- Encender el flujo laminar 15 minutos antes de utilizarlo.
- 3- Observar que no se obstruye el flujo de aire.
- 4- Si hay derrame dentro de la cabina, limpiar con un desinfectante apropiado o alcohol al 70%.
- 5- Evitar el uso de mecheros de flama dentro de la cabina.
- 6- Llevar un control de la medida del flujo de aire.
- 7- Llevar un control de la calibración del flujo de aire.
- 8- Llevar un control del cambio de los filtros.
- 9- Compruebe los sistemas de alarma de funcionamiento.
- 10- La superficie interior de la mesa de trabajo de la cabina, puede ser cultivada semanalmente para detectar contaminación.
- 11- Desinfectar la cabina antes y después de utilizarla.
- 12- No utilizar las cabinas biológicas para hacer mezclas de sustancias químicas y viceversa.
- 13- Cuando trabaje en la cabina, evite la entrada brusca de aire y el uso innecesario de las puertas del área (anexo N° 4).

X. Documentos de calidad

Los documentos son testimonios que asumen cualquier forma, (Manuales, registros, formatos etc. pueden ser por escrito o electrónicos) a través de ellos se prueba, se establece o se hace constar algo; la documentación es importante por que podemos establecer por medio de ella que los procesos se hagan de la misma manera, facilita el entrenamiento del personal, permite rastrear o reconstruir un proceso para identificar donde ocurrió el problema y corregirlo.

Todos los documentos que se emitan para el personal de laboratorio deben de ser revisados y aprobados antes de ser liberados para su uso, y estarán disponibles en los lugares donde son necesarios. Es conveniente que se determine cada cuanto se revisará la documentación para su actualización y que se establezca su estructura, de manera que todos los documentos se redacten con el mismo estilo.

a) Manual de procedimientos.

Este documento es un conjunto de instrucciones que describe cada uno de los procesos que se realizan y la manera como se realizan. Esta descripción debe ser muy clara y minuciosa, de forma que cualquier persona calificada siguiendo las instrucciones del manual, sea capaz de realizar cualquier proceso con la seguridad que el resultado final será de calidad.

Todo los laboratorio de la red de tuberculosis del país debe tener su manual de procedimientos de tuberculosis, el cual contiene las instrucciones escritas de los procedimientos que se hacen en ese laboratorio y debe indicar la única manera en que se deben realizar estos procedimientos.

b) Protocolo de trabajo.

Los protocolos de trabajo son documentos que establecen el orden de las muestras ha ser analizadas y registran los datos resultantes durante la ejecución del análisis, de modo que cualquier técnico pueda interpretar con ellos el resultado, por ello es importante que se llene en el momento de ejecutar las pruebas y que contenga: identificación de la prueba a realizar, la identificación de las muestras, la fecha de realización de la prueba, criterio para interpretar los resultados, nombre y firma del responsable del desarrollo de las pruebas. Los protocolos son documentos que deben encontrarse limpios sin borrones ni manchones pues son documentos con valor legal, que posibilitan el rastreo de los datos en caso de auditoria o de acciones legales.

c) Registros.

Son documentos que presentan resultados obtenidos o proporcionan evidencia de actividades desempeñadas. Los laboratorios

de la red de tuberculosis que realicen pruebas para la detección del Mycobacterium tuberculosis deben registrar todas las actividades realizadas y estos registros deben garantizar la trazabilidad de todos los procesos, así mismo ser elaborados de tal manera que proporcionen la evidencia necesaria de conformidad con los requisitos de calidad, por lo que se debe implementar un proceso específico para la corrección de errores en los registros ya que el error no puede ser borrado, hacerse ilegible o alterado; el procedimiento que puede utilizarse es el de trazar una línea roja sobre el error de modo que todavía se lea y a la par se coloca el dato corregido; cuando los registros se llevan en medios electrónicos las correcciones deben hacerse de tal forma que se evite la pérdida de los datos originales. Los registros deben ser llenados en el momento en que se hace la actividad, lo más común es que se haga sobre papel, pero puede también haber registros electrónicos.

En el laboratorio de tuberculosis se llevan diversos registros como el registro de temperaturas y el registro de actividades de laboratorio PCT- 4 (anexo N° 1 y N° 3).

Es importante recalcar que desde el punto de calidad lo que no sea registrado no existe o no se ha hecho. Todos los registros deben ser legibles y estar almacenados y retenidos de tal forma que sean fácilmente recuperables y en lugares que provean un ambiente apropiado para prevenir su daño, deterioro o pérdida.

Los registros deben ser conservados y retenidos por un período apropiado, no inferior a tres años.

d) Formatos

Los formatos aparecen habitualmente como anexos a otros documentos, contemplan los espacios donde habrá que registrarse los resultados de la realización de una actividad concreta, se utilizan para solicitar análisis o para la emisión de resultados, una vez que contenga los datos escritos estos formatos pasan a ser registros.

En los laboratorios de la red de tuberculosis se utilizan diferentes formatos: (anexos: N° 1, N° 3 y N° 5).

XI. Liberación de resultados

El resultado final de la evaluación de una muestra clínica luego de cumplir con todas las etapas de investigación, es el informe final que implica una identificación etiológica.

En todo informe final debe prevalecer el concepto de rapidez y seguridad diagnóstica. Los resultados deben ser reportados en forma clara, objetiva, sin ambigüedad y ser revisados y evaluados antes de su envío con el fin de minimizar potenciales errores u omisiones del informe final, tomando en cuenta el valor que éste reporte tendrá en la evaluación, tratamiento y el seguimiento de la salud del paciente.

El laboratorio debe tener procedimientos establecidos para corregir errores cuando estos se produzcan.

El laboratorio de tuberculosis tiene para el reporte de sus resultados los siguientes formatos estandarizados:

a) Reporte de resultado de baciloscopia.

El número de bacilos es muy importante como elemento de información, pues tiene relación directa con el grado de contagio del paciente, así como con la severidad de la enfermedad.

Forma de reporte:

NÚMERO DE BACILOS ENCONTRADOS	CAMPOS DE IMERSIÓN OBSERVADOS	FORMA DE REPORTE
No se observan BAAR	100 campos	Negativo
O – 1 BAAR x campo	100 campos	Positivo +
1 – 10 BAAR x campo	50 campos	Positivo ++
> de 10 BAAR x campo	20 campos	Positivo +++

Si en una lámina se observan de 1 a 4 BAAR en 100 campos, se recomienda:

- Ampliar la lectura a otros 200 campos.
- Si con esta lectura no se encuentran más BAAR, hacer otro extendido de la misma muestra.
- Si la lectura de este segundo extendido no modifica el resultado del anterior, la muestra debe informarse como negativa, registrar el

hallazgo de 1 a 4 BAAR, en el libro de registro de actividades de laboratorio PCT-4 y solicitar nueva muestra. Es conveniente hacer cultivo de este tipo de muestra.

b) Reporte de resultado de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*

El reporte de resultado del cultivo debe ser semicuantitativo, para lo cual se emplea el siguiente parámetro:

Forma de reporte:

No se observan colonias	Negativo
Si hay menos de 20 colonias	Número total de colonias
De 20 a 100 colonias	+
Mas de 100 colonias separadas	++
Colonias confluentes	+++
Cultivo contaminado	C

Se debe realizar frotis y coloración de Ziehl-Neelsen de las colonias que no tienen morfología típica de *Mycobacterium tuberculosis*, de observarse BAAR se procederá a hacer la prueba de tipificación.

c) Reporte de resultado de prueba de sensibilidad a las drogas.

Se cuentan las colonias desarrolladas en cada uno de los tubos con droga, indicando el número de mutantes resistentes a cada droga. La relación entre el número de mutantes resistentes a la droga y el número de bacilos sembrados multiplicado por 100 es igual al porcentaje de resistencia a la droga. Comparando este porcentaje con la proporción crítica establecida para esa droga se determina si la cepa es sensible o resistente. Los resultados para las pruebas de sensibilidad a las drogas deben leerse a los 30 y 40 días, la lectura de los 30 días solo

debe ser definitiva a aquellas drogas a las cuales la cepa ha sido clasificada como resistente. La lectura a los 40 días es la definitiva para las drogas a las cuales es sensible. Se reporta en el formato solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis PCT-3, **Sensible** o **Resistente**.

d) Reporte de la identificación de micobacterias.

La tipificación de las micobacterias involucra muchos aspectos como son: el aspecto microscópico, las características del cultivo, fotocromogenicidad, y prueba de la Niacina. Los cultivos Niacina positiva se reportan como *Mycobacterium tuberculosis*.

Los cultivos Niacina negativa se clasificaran según sus características diferenciales. El laboratorio de referencia podrá realizar otras pruebas para obtener una mayor diferenciación dentro de cada grupo.

XII. Bioseguridad

Las infecciones con *Mycobacterium tuberculosis* constituyen un peligro probado para el personal de laboratorio, así como para otras personas que puedan estar expuestas a aerosoles infecciosos en el laboratorio. Se ha informado que la incidencia de tuberculosis en el personal de laboratorio que trabaja con *Mycobacterium tuberculosis* es tres veces mayor que la de quienes no trabajan con el agente.

a) Riesgos de laboratorio

Los bacilos de tuberculosis pueden presentarse en el esputo, en los fluidos de contenido gástrico, en el fluido cerebroespinal, en la orina y en lesiones de varios tejidos. El peligro más importante que se encuentra es la exposición a aerosoles generados en el laboratorio. Los bacilos de tuberculosis pueden sobrevivir en muestras fijadas con calor.

Debido a la baja dosis de *Mycobacterium tuberculosis* necesaria para producir una infección en humanos y en algunos laboratorios a la alta tasa de aislamiento de organismos acidorresistentes de muestras clínicas; los esputos y otras muestras clínicas, deben considerarse potencialmente infecciosas y deben ser manipuladas con la precaución correspondiente.

b) Precauciones Recomendadas

Para las manipulaciones de muestras clínicas acidorresistentes, se recomiendan las prácticas, el equipo de contención y las instalaciones del Nivel de Bioseguridad 2. Todas las actividades en las que se trabaje con cepas de *Mycobacterium tuberculosis* como los cultivos, pruebas de sensibilidad e identificación de micobacterias, deben realizarse en un Gabinete de Seguridad Biológica Clase II. La coloración de acidorresistencia se puede realizar en forma segura en la mesa, tratando previamente la muestra, con un volumen equivalente al 10% de solución de lejía comercial

Nota: Las pruebas en piel con el derivado de proteína purificada (PPD) en personal de laboratorio con pruebas previas negativas en piel se pueden utilizar como procedimiento de control.

c) Actividades de mayor riesgo.

- Trasvasar suspensiones bacilares con pipeta.
- Centrifugar líquidos que puedan contener bacilos.
- Descarte del líquido sobrenadante después de la centrifugación.

- Destapar tubos después de centrifugar o agitar.
- Agitar a mano o en agitador mecánico tubos con líquido que probablemente contienen bacilos.
- Desintegrar tejidos en morteros.
- Destapar envases con muestras.
- Preparar el extendido.
- Toda actividad que genere aerosoles.

d) Precauciones del trabajo.

Para todas las actividades técnicas del laboratorio de tuberculosis, debe utilizarse gabacha de manga larga y preferentemente cerrada por delante.

Desinfección frecuente de las manos, lavado con abundante agua y jabón y secado con

toalla de papel.

Es conveniente usar mascarilla descartable de material de espesor adecuado, para que sirva de barrera de protección.

En el laboratorio no se debe comer, beber, fumar, peinarse o aplicarse cosméticos.

Los líquidos nunca se pipetean con la boca y en su lugar se emplearán pro-pipetas.

Cuando se centrifuguen tubos con material inféctante nunca abrir la tapa hasta que pare completamente la centrifuga.

Hacer las pruebas de mayor complejidad en cabina de bioseguridad.

En caso de accidente se debe avisar inmediatamente al responsable del laboratorio y registrar los nombres de personas afectadas,

del material del accidente y la fecha en que ocurrió.

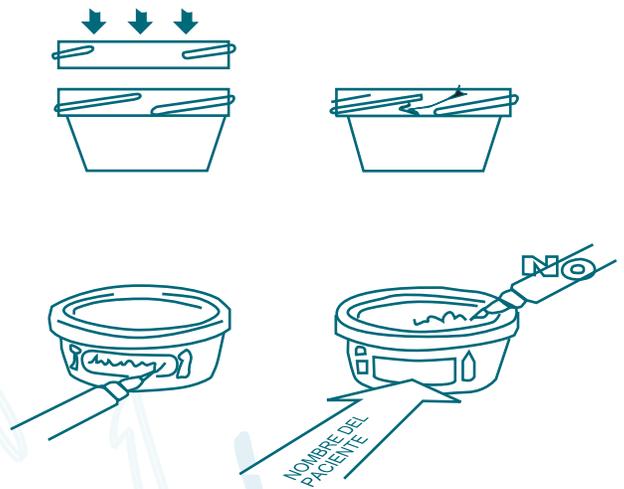
XIII. Procedimientos

Procedimiento N° 1 Toma de muestra de esputo.

Debe instruirse al paciente a que inspire profundamente y que una vez retenido por un instante el aire en los pulmones, lo lance violentamente hacia fuera por un esfuerzo de tos. Debe repetir esta operación hasta obtener a lo menos 3 esputos, depositándolos dentro del envase que se le ha entregado, evitando que se escurra por sus paredes exteriores.



El envase para la recolección de la muestra, debe llenar las siguientes características: rígido para evitar que se aplasten durante el traslado, tener boca ancha, transparente, tapón de rosca que permita tapanlo en forma hermética para evitar derrames y contaminación, capacidad de 35 – 40 ml, plástico y fácil de rotular. La rotulación se hará en el cuerpo del envase y no en la tapadera.



Se recomienda no dejar transcurrir más de 7 días entre la recolección y el examen de la muestra, conservándola siempre en refrigeración o en un lugar fresco y protegida de la luz. En el transporte de las muestras se consideran 3 aspectos importantes:

- protegerlas del calor excesivo.
- protegerlas de la luz solar.
- acondicionarlas de forma tal que no haya riesgo de que se derramen.

Procedimiento N° 2 Preparación del extendido.

Se toma la lámina con los dedos índice y pulgar, en el tercio correspondiente al número.

Se coloca la partícula sobre la lámina, cerca de la línea hecha con el plumón o lápiz grafito, se homogeniza o mezcla la muestra extendiéndose hasta el extremo opuesto para lograr una película uniforme que cubra las dos terceras partes de la lámina. Para que esta película o placa 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 granulados, la película pierde su homogeneidad dificultando la lectura.

Terminado el extendido se desechan los aplicadores en un recipiente con lejía comercial. Se cierra el envase y se coloca una segunda línea en el mismo orden de la línea de trabajo detrás de las que aún no se han procesado. Los extendidos se colocan en la parte superior de la gradilla para que sequen a temperatura ambiente. Los envases con las muestras ya procesadas sólo deberán ser descartados después de la observación microscópica, colocándoles a cada frasco fenol al 5% ó lejía comercial al 10%. Una vez secos los extendidos se fija la lámina, pasándola rápidamente sobre la llama tres veces, con el extendido hacia arriba. Se colocan los extendidos en la parte inferior de la gradilla a medida que se van fijando y se lleva con las láminas al sitio de coloración.

Nota. La lejía al 10% es semejante al hipoclorito de sodio al 0.5% siempre que la

lejía esté entre el 6 y el 4% como lo indica el manual de bioseguridad.

Procedimiento N° 3 Técnica de lectura.

Para el examen microscópico, lo más conveniente es un microscopio binocular con objetivo de inmersión (100x) y un ocular de aumento moderado.

Examinar un mínimo de 100 campos microscópicos. La lectura debe hacerse de manera sistemática y estandarizada. Empezar la lectura del frotis en el centro del extremo izquierdo de la lámina, ajustando levemente con el tornillo micrométrico.

Después de haber examinado un campo microscópico, mover la lámina en forma longitudinal, para examinar el siguiente campo hacia la derecha. De esta manera, examinar todos los campos microscópicos, desde el principio hasta el fin de la longitud central del frotis. El número de campos microscópicos que corresponde a la longitud del frotis es de 100 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 resistentes (BAAR), en 100 campos; se debe hacer una nueva búsqueda más cuidadosa en otros 100 campos. Mover la lámina unos milímetros hacia atrás y leer una segunda longitud del mismo (de derecha a izquierda).

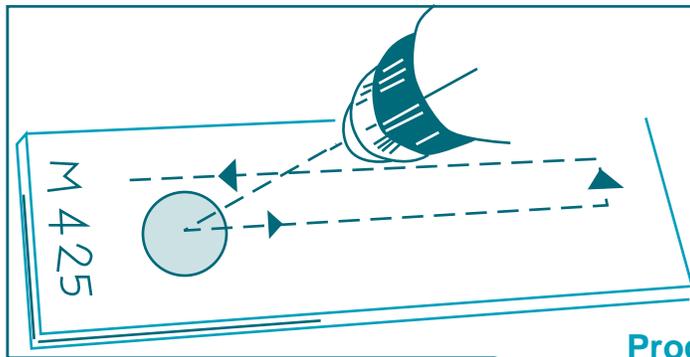
Los bacilos tuberculosos se observan como bastoncitos delgados y rojos, ligeramente curvos, más o menos granulados, aislados,

pareados o en grupos, destacándose claramente contra el fondo azul. Calcular el número de bacilos vistos por campo.

Al finalizar el examen, separar el objetivo de la lámina, retirarla y verificar la identificación con el número grabado en la lámina y anotar el resultado en el protocolo de trabajo (solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis PCT-3 o pasarlo directamente al libro de registro de actividades de laboratorio (PCT-4).

Antes de examinar un nuevo frotis, limpiar el lente de inmersión con un papel para limpiar lentes.

Limpiar el aceite de la lámina y guardarla hasta su envío para control de calidad, al nivel



Procedimiento N° 4 **Determinación de la sensibilidad del medio de cultivo.**

El procedimiento recomendado es el siguiente: Se controlarán 10 tubos tomados al azar, de cada partida. Sembrar una primera serie de cinco tubos, cada uno con 0.2 ml de una suspensión 10^{-5} de la cepa estándar HRV37.

Sembrar una segunda serie también de cinco tubos, cada uno con 0.2 ml pero con una suspensión 10^{-6} de la misma cepa. Incubar por 30 días a 37°C y leer los resultados contando las colonias desarrolladas en cada tubo.

Este resultado se comparará con el patrón normal de desarrollo de las suspensiones 10^{-5} y 10^{-6} de la cepa HRV37 y en base a ello se juzgará la sensibilidad del medio en estudio.

El control del rendimiento o eficiencia del medio deberá realizarse en cada nuevo lote fabricado en el laboratorio.

En el control de esterilidad no se deberá observar crecimiento en el medio. En el control de eficiencia se deberá constatar crecimiento de *M. tuberculosis*.

Cuando estos no sean correctos se deberían llevar a cabo nuevos controles. Las medidas

correctivas podrían incluir la realización de nuevas pruebas adicionales que determinen el problema del medio. En los medios fabricados en el laboratorio habría que revisar el procedimiento de preparación y los reactivos utilizados.

Procedimiento N° 5 **Control externo indirecto de la baciloscopia.**

a) 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 revisar la numeración ó identificación y guardarlas.
- Las láminas deben ser enviadas en los primeros 5 días del mes siguiente, al

laboratorio evaluador, acompañadas de un listado en donde se indique: número total de láminas revisadas en el mes; el número de la lámina y su resultado. Si éste fuere positivo se indicará el número de cruces. (Ejemplo: En los primeros 5 días del mes de febrero se enviará la totalidad de láminas realizadas por el laboratorio durante el mes de enero).

- Cada laboratorio debe de ser supervisado mensualmente; para garantizar una calidad estable.
- Cada laboratorio regional de control de calidad de baciloscopía, enviará al Laboratorio Central el total de las láminas que le ha releído al nivel local (láminas positivas y negativas); en los primeros 5 días del mes siguiente, para su respectivo control de calidad.

Lectura de láminas por el laboratorio evaluador.

- La lectura debe efectuarse de acuerdo a las normas; y desconociendo el resultado del laboratorio evaluado.
- El lector debe tener amplia experiencia en lectura de baciloscopías.
- Según el número de láminas recibidas del laboratorio evaluado y la capacidad de lectura del laboratorio evaluador, se revisará la totalidad de las láminas o sólo una parte. En este último caso, se examinarán las positivas y, entre éstas, preferentemente las de menor cuantía de positividad (+ ó ++) y la mayor cantidad de negativas que sea posible. No es conveniente establecer una proporción fija.

Reporte

Una vez leídas las láminas debe elaborarse el informe, en el cual se pone: el número total

de láminas releídas y su resultado, el número total de láminas enviadas por el laboratorio evaluado y el número de láminas releídas; se detalla la evaluación de las láminas y las recomendaciones cuando fuera necesario, sugiriendo las posibles causas del error, sus consecuencias y la forma de solucionarlo.

Procedimiento N° 6 Control externo directo.

El control de calidad externo directo se debe planificar tomando en cuenta la importancia de los procesos y las áreas que se quieren controlar, así como el resultado de controles anteriores y debe asegurarse la objetividad e imparcialidad.

Debe darse aviso previo al laboratorio sobre la fecha y objetivos de la visita de control de calidad a fin de evitar desencuentros y falsas impresiones.

Al llegar al establecimiento, debe reunirse primero con el director y jefe del laboratorio del establecimiento visitado, para informar sobre los objetivos de la visita.

En lo posible contactar con los encargados del programa de control de tuberculosis en ese establecimiento, a fin de conocer sobre la metodología de la localización y relaciones con el laboratorio.

En el laboratorio debe observar los siguientes aspectos:

a) Aspectos generales: Local, personal, Materiales y equipos medidas de bioseguridad, organización interna y coordinación con otros equipos de trabajo.

b) Aspectos Técnicos: Muestra, extendido, coloración, lectura y reporte, archivo de láminas para el control directo.

c) Aspectos administrativos: Sistema de registros, liberación de resultados, información estadística, nómina de casos positivos. Una vez concluída la visita es conveniente realizar una reunión con el personal involucrado, para compartir la información reunida, discutir los hallazgos y señalar acciones preventivas y correctivas así como puntos de mejora.

Hacer un informe final para dar a conocer al director de la institución e involucrados sobre los resultados de la visita de control de calidad, puntualizando sobre la calidad con que se realizan las tareas así como las recomendaciones.

Dar seguimiento cuando se encuentren puntos no conformes para ver que se implementen las medidas correctivas.

XIV Glosario

AEROSOLES:

Suspensión en medio aéreo.

ASEPSIA:

Ausencia completa de microorganismos vivos.

BAAR:

Bacilo ácido – alcohol resistente.

BARRERA DE PROTECCION:

Son equipos, instrumentos e instalaciones que contribuyen a guardar la bioseguridad

BK:

Baciloscopía.

CALIDAD:

Requisitos que se cumplen para satisfacer las necesidades de los clientes.

CERTIFICACIÓN:

Reconocimiento público, que se obtiene mediante una auditoría de tercera, de que un laboratorio cumple los requisitos de calidad.

COMPETITIVIDAD:

Es el grado en el cual una organización puede producir bienes o servicios que satisfagan la prueba de las demandas del mercado.

DOSIS INFECCIOSA:

Número de patógenos necesarios para producir enfermedad.

EFICACIA:

Se realizan las actividades planificadas y se alcanzan las metas.

EFICIENCIA:

Relación entre el resultado alcanzado y los recursos utilizados.

EXACTITUD:

La verdadera o correcta medida, lo mas cercano al valor real.

HRV37:

Humana, rugosa, virulenta.

INDICADOR BIOLÓGICO DE ESTERILIDAD:

Ampollas con esporas como el microorganismo, Bacillus Stareothermophilus utilizado para control de esterilidad.

LABORATORIO EVALUADOR:

Laboratorio que ejerce el control de calidad a los niveles locales.

MEDIDA CORRECTIVA:

Acción tomada para eliminar la causa de una no conformidad.

MICOBACTERIAS:

Género de bacterias integrado por 70 especies, dentro de este género se encuentra el Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis y Mycobacterium africanum; las cuales son altamente patógenas e infecciosas.

PARTÍCULA ÚTIL:

Partícula purulenta del esputo.

PRECISIÓN:

Capacidad de obtener resultados muy próximos entre sí.

PROCESOS:

Conjunto de actividades mutuamente relacionadas o que interactúan, transforma entradas en salidas.

PRODUCTIVIDAD:

Cantidad de bienes y servicios producidos por cada hora de trabajo.

PCT- 3:

Solicitud de examen bacteriológico de Tuberculosis.

PCT- 4:

Registro de actividades de laboratorio.

PNCT:

Programa Nacional de Control de Tuberculosis.

PPD:

Derivado protéico purificado de la tuberculina.

RIEZO:

Es la posibilidad o probabilidad de que ocurra daño a la salud de las personas.

SR:

Sintomático Respiratorio.

TRAZABILIDAD:

Capacidad para seguir la historia, la aplicación o la localización de todo aquello que está bajo consideración.



XV. Anexos



ANEXO No.1

TABLA DE CONTROL DE TEMPERATURAS

Meses Días	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												
21												
22												
23												
24												
25												
26												
27												
28												
29												
30												
31												



ANEXO No.2

GUÍA PARA EL CONTROL DE CALIDAD DIRECTO (supervisión)

SIBASI: _____

Departamento: _____ Fecha: _____

Servicio de Salud: _____

Director del Establecimiento: _____

Persona que supervisa: _____

Personal que trabaja en el laboratorio. Entrenamiento en baciloscopías.

_____ Mes: _____ Año: _____

_____ Mes: _____ Año: _____

Se están anotando adecuadamente los datos del paciente en el libro de registro de baciloscopías?:

Sí: _____ No: _____

Se anotan adecuadamente los resultados en el libro de registro?:

Sí: _____ No: _____

Se elabora adecuadamente el informe mensual?:

Sí: _____ No: _____

Número de SR estudiados en el mes: _____

Número de baciloscopías realizadas en el mes: _____

Envía láminas de BAAR para revisión periódica?:

Sí:_____ No:_____

Tiene a mano la técnica para realizar baciloscopías?:

Sí:_____ No:_____

La preparación del frotis es adecuada?:

Sí:_____ No:_____

Si la respuesta es no,

explique:_____

La técnica de tinción se realiza según la norma?:

Sí:_____ No:_____

Si la respuesta es no,

explique:_____

La boleta de resultado (PCT-3), se llena según la norma?:

Sí:_____ No:_____

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

Usa mechero para realizar los extendidos?:

Sí:_____ No:_____

Se descartan los aplicadores adecuadamente?:

Sí:_____ No:_____

Usa el técnico gabacha para trabajar?:

Sí:_____ No:_____

Libro de registro de actividades de laboratorio (PCT-4)

Sí:_____ No:_____

REACTIVOS Y MATERIALES.

Existe algún problema en el suministro de materiales?

Sí:_____ No:_____

Si la respuesta es sí, explique

Existencia de reactivos y materiales.

Lámina portaobjeto_____

Frascos de vidrio ámbar para colorantes_____

Frascos recolectores_____

Papel filtro_____

Embudos plásticos_____

Cuaderno de registro de laboratorio (PCT-4)_____

Caja para transporte de muestras_____

Aplicadores de madera_____

Mascarillas_____

Boletas de respuestas de BAAR (PCT- 3)_____

Fucsina fenicida_____

Alcohol ácido_____

Azul de metileno_____

Fenol ó lejía_____

Alcohol de 95°_____

Aceite de inmersión_____

Otros_____

Se guardan adecuadamente los extendidos para su control de calidad?:

Sí:___ No: _____

Se descartan adecuadamente los frascos recolectores?:

Sí:_____ No:_____

Si la respuesta es no,

explique: _____

Están los colorante y reactivos rotulados?

Sí:_____ No:_____

EQUIPO.

Revisión del microscopio usado para baciloscopías.

(Nota: El supervisor debe tomar una lámina positiva y colocarla ne el microscopio y examinarla)

Se visualizan claramente los bacilos?

Sí:_____ No:_____

(Nota: Si la respuesta es no, examine los oculares y el lente de inmersión

La iluminación del microscopio es adecuada?:

Sí:_____ No:_____

Tiene lámpara de repuesto para el microscopio?:

Sí:_____ No:_____

Cuentas: _____

OTROS PROBLEMAS Y NECESIDADES

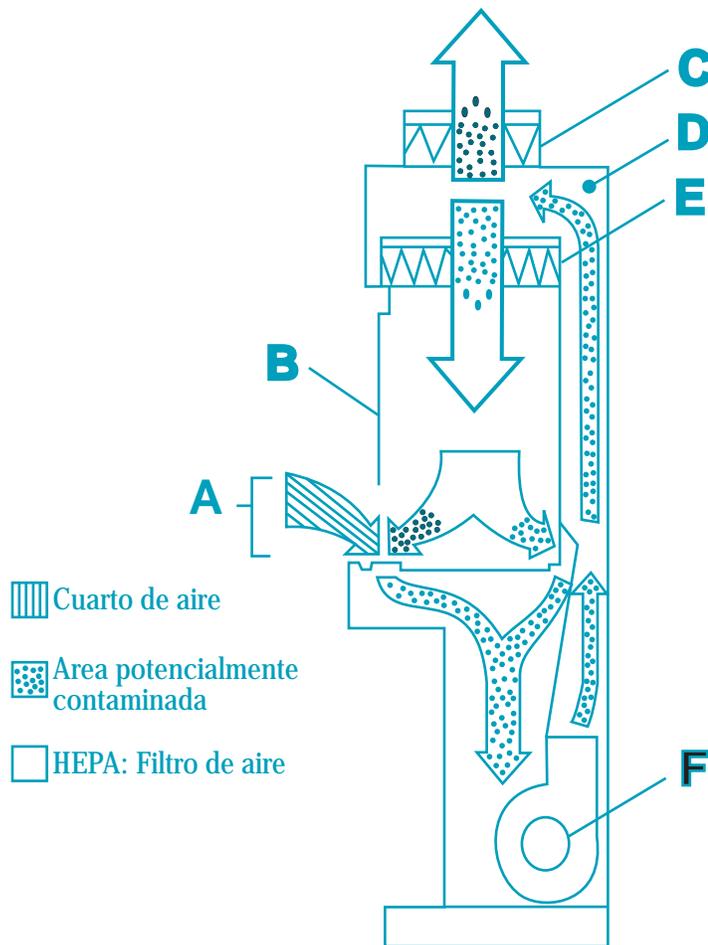
SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES



ANEXO No. 4

CABINA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA CLASE II

A apertura frontal; B ventana; C filtro de escape HEPA; D pleno posterior, E. Filtro HEPA de suministro; F. ventilador





ANEXO No. 5

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Programa Nacional de Prevención y Control de Tuberculosis

SOLICITUD DE EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS (PCT-3)

Establecimiento de Salud: _____		Fecha de Recepción en el Laboratorio: _____	
Nombre: _____		No. de Exp. _____	
Edad: _____	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	Procedencia: <input type="checkbox"/> Consulta Externa <input type="checkbox"/> Emergencia <input type="checkbox"/> Hospitalización	
Dirección Exacta: _____		Fecha de Indicación: _____	
Nombre del solicitante: _____		1ra. <input type="checkbox"/> 2da. <input type="checkbox"/> 3ra. <input type="checkbox"/>	
Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> ESPUTO <input type="checkbox"/> OTRA <input type="checkbox"/> Especificar _____			
EXAMEN SOLICITADO			
<input type="checkbox"/> BACILOSCOPIA		<input type="checkbox"/> CULTIVO PARA DIAGNÓSTICO	
<input type="checkbox"/> EN SR.		<input type="checkbox"/> CULTIVO DE CONTROL	
EXAMEN PARA CONTROL DE TRATAMIENTO ACTUAL			
DROGAS: <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> Z <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> S		NÚMERO DE MESES CON TRATAMIENTO: 2º. <input type="checkbox"/> 4º. <input type="checkbox"/> 6º. <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/>	
Observaciones: _____		3º. <input type="checkbox"/> 5º. <input type="checkbox"/> 8º. <input type="checkbox"/>	
RESULTADO:			
1. Baciloscopia: Positivo: <input type="checkbox"/>		2. Cultivo Positivo: <input type="checkbox"/>	
Negativo: <input type="checkbox"/>		Negativo: <input type="checkbox"/>	
Nombre y Sello: _____		Fecha de Resultado: _____	
Observaciones: _____			

LA BACILOSCOPIA Y EL CULTIVO SON GRATUITOS.

Este documento ha sido producido
gracias al apoyo financiero del
Proyecto Fondo Global

Apoyo Técnico, Proyecto TBCTA -
OPS/OMS USAID,

1a edición: 1,000 ejemplares
San Salvador, diciembre 2004

Consulte nuestro sitio web
www.mspas.gob.s.v.

