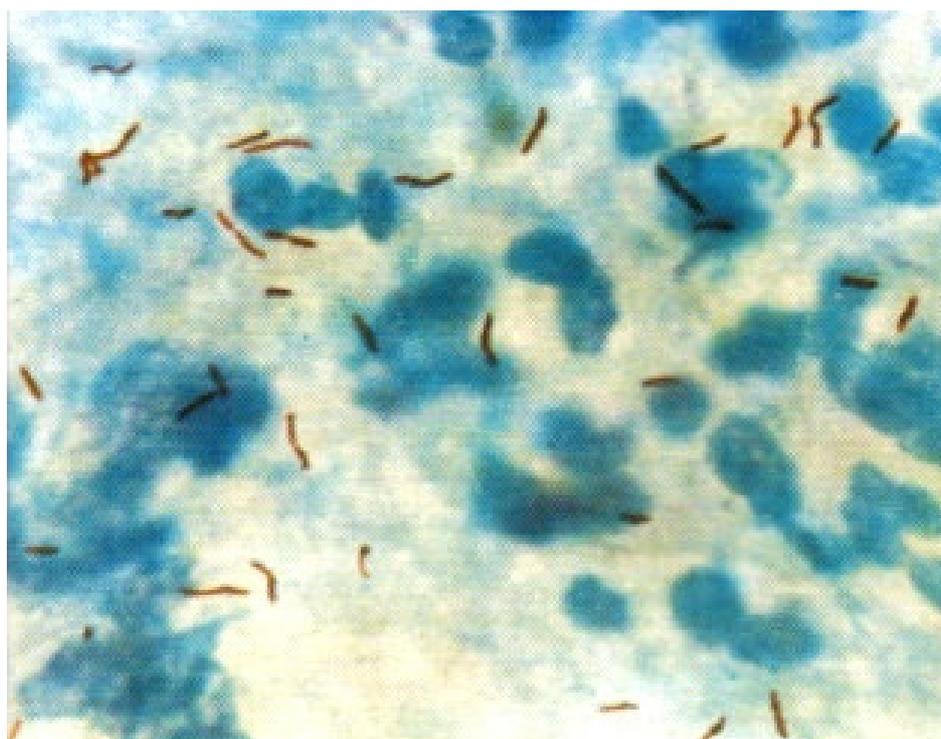




**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Y ASISTENCIA
SOCIAL DIRECCIÓN DE REGULACIÓN
PROGRAMA NACIONAL DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA
TUBERCULOSIS.**

GUÍA TÉCNICA PARA EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS POR MICROSCOPIA DIRECTA



**San Salvador, El Salvador. C. A.
Año 2005**



AUTORIDADES

**DR JOSÉ GUILLERMO MAZA BRIZUELA
MINISTRO DE SALUD PÚBLICA**

**DR. JOSÉ ERNESTO NAVARRO MARIN
VICEMINISTRO DE SALUD PÚBLICA**

**DR. JOSÉ ROBERTO RIVAS AMAYA
DIRECTOR DE REGULACIÓN**

**DR. HUMBERTO ALCIDES URBINA
DIRECTOR GENERAL DE SALUD**

**DR. JULIO GARAY RAMOS
JEFE PROGRAMA NACIONAL DE PREVENCIÓN Y
CONTROL DE LA TUBERCULOSIS**

CONTENIDO

	Página
- Presentación.....	3
- Generalidades sobre la tuberculosis.....	4
- Organización de los laboratorios de bacteriología de la tuberculosis.....	5
- Funciones generales de la red de laboratorios.....	5
- CAPÍTULO I.....	6
Toma de Muestras	
▪ Procedimientos para la toma de muestras	
▪ Transporte y conservación de las muestras	
▪ Recepción de la muestra	
- CAPÍTULO II.....	11
Equipos, Material y Reactivos necesarios	
▪ El microscopio, uso y cuidados	
- CAPÍTULO III.....	16
Preparación del extendido	
- CAPÍTULO IV.....	18
Coloración	
- CAPÍTULO V.....	20
Examen microscópico	
▪ Técnica de lectura	
▪ Informe de resultados	
- CAPÍTULO VI.....	22
Bioseguridad	
▪ Medidas de protección en el laboratorio	
- CAPÍTULO VII.....	24
Supervisión y Control de Calidad	
▪ Métodos de Supervisión	
- ANEXOS.....	26
1. Tabla de cálculo para elaborar el pedido de materiales	
2. Preparación de reactivos	
3. Causas de error en la baciloscopía	
4. Indicadores operacionales	
5. Indicación para el llenado del libro de actividades de laboratorio (PCT 4)	
6. Registro de actividades de laboratorio (PCT 4)	
7. Solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis (PCT 3)	

INTRODUCCIÓN

El Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis de El Salvador, reconoce que los servicios de bacteriología son fundamentales para: el diagnóstico de los casos de tuberculosis, seguimiento de los resultados del tratamiento y verificación de la curación de los pacientes con tuberculosis. En ese sentido los servicios de laboratorio son un componente esencial de la Estrategia de Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado (TAES); ya que el diagnóstico sólo puede hacerse en forma confiable demostrando la presencia del bacilo, por medio de la microscopía o de los cultivos de laboratorio, por lo tanto la seguridad y garantía de la calidad de los laboratorios de tuberculosis es determinante en la eficacia del programa.

Tomando en consideración las condiciones y complejidad de la red de laboratorios del Ministerio de Salud, las técnicas a utilizar deben ser sencillas, realizables por los técnicos de laboratorio y con alto grado de confiabilidad de los resultados obtenidos; así también la capacitación del personal es esencial para mejorar la eficiencia.

La estandarización de las técnicas básicas de bacteriología de la tuberculosis es necesaria para obtener resultados comparables y confiables en todo el país; por tal razón se ha elaborado la presente **“Guía Técnica para el Diagnóstico de Tuberculosis por Microscopía Directa”**, la cual tiene como propósito orientar al personal de laboratorio sobre técnicas y procedimientos a ejecutar en la toma, envío, recepción y procesamiento de muestras para la bacteriología de la tuberculosis.

LA TUBERCULOSIS

La Tuberculosis es una enfermedad transmisible, causada por una bacteria llamada Mycobacterium tuberculosis. Cuando esta bacteria penetra al cuerpo a través del aparato respiratorio, se localiza principalmente en los pulmones, pero puede raramente, localizarse en riñones, huesos, aparato digestivo, ganglios linfáticos, sistema nervioso central, articulaciones o en cualquier otro lugar del organismo.

La transmisión de la enfermedad se produce generalmente por inhalación de este microorganismo, el cual es expulsado por un paciente tuberculoso, al toser, estornudar o hablar.

Después de tres a cuatro semanas de adquirir la infección, se producen lesiones en los pulmones. La extensión de la lesión depende del número de bacilos inhalados, del estado nutricional y de las defensas de la persona infectada. Si bien, son muchas las personas expuestas al bacilo que se infectan, pocas de ellas desarrollarán la enfermedad.

Síntomas más frecuentes de la enfermedad:

- ❖ tos persistente por más de dos semanas, con ó sin expectoración mucopurulenta algunas veces con estrías de sangre.
- ❖ Dolor en el pecho.
- ❖ Pérdida del apetito y pérdida de peso.
- ❖ Sudoración nocturna y a veces febrículas.

El diagnóstico se confirma por el examen microscópico directo del esputo (baciloscopia) o de otro tipo de muestra. En casos de Tuberculosis extrapulmonar, además de la baciloscopia, debe realizarse el cultivo, para confirmar el diagnóstico.

El tratamiento usado actualmente en El Salvador para pacientes nuevos es a base de Isoniacida (H), Rifampicina (R), Pirazinamida (Z) y Etambutol (E). En una amplia mayoría, los pacientes con baciloscopia positiva pasan a tener una baciloscopia negativa en los primeros 2 meses de tratamiento..

Para prevenir la enfermedad y lograr su disminución en la comunidad, es muy importante el diagnóstico oportuno y el tratamiento acertado estrictamente supervisado (TAES) de los pacientes tuberculosos bacilíferos (infectantes). También, otro elemento fundamental de los programas para la prevención de esta enfermedad, es la vacunación con BCG, quimioprofilaxis en condiciones adecuadas y la educación del paciente y de su familia.

ORGANIZACIÓN DE LOS LABORATORIOS DE BACTERIOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS.

La bacteriología constituye uno de los aspectos fundamentales del programa nacional de control de la tuberculosis, en estrecha relación con la administración, la epidemiología y la clínica. Los servicios de diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis, deben ser desarrollados al mismo ritmo que las demás acciones del programa, procurando la máxima cobertura posible sobre la base de la integración de sus actividades en los laboratorios de salud de la organización sanitario-asistencial del país.

RED DE LABORATORIOS.

La red de laboratorios está constituida por los siguientes niveles:

- 1- Nivel central: comprende el laboratorio central y de referencia nacional.
- 2- Nivel intermedio: constituido por los laboratorios regionales o departamentales.
- 3- Nivel local: representado por los laboratorios de los establecimientos de salud. Como parte de la organización, incluye a las unidades de recolección de muestras.

Desde el punto de vista de su complejidad técnica, existen tres tipos de laboratorios:

- 1- Tipo I ó A: efectúa baciloscopías, cultivos, pruebas de sensibilidad y pruebas de identificación de micobacterias.
- 2- Tipo II ó B: realiza baciloscopías y cultivos.
- 3- Tipo III ó C: hace sólo baciloscopias.

El número y la ubicación de los laboratorios de tipo I y II serán determinados por el nivel central del programa. En todo laboratorio de un establecimiento de salud, aunque sea de complejidad mínima ó básica, se deberá efectuar la baciloscopía, es decir será un laboratorio de tipo III. Los establecimientos de salud que no cuenten con un laboratorio serán las unidades encargadas de la recolección de muestras.

FUNCIONES GENERALES DE LA RED DE LABORATORIOS.

Es conveniente distinguir dos grandes grupos de funciones que debe cumplir la red, las que tendrán mayor o menor relevancia de acuerdo con el nivel del laboratorio de que se trate dentro de la organización.

- 1- Funciones técnicas: que consiste en efectuar los exámenes que le han sido asignados de acuerdo con los medios de que dispone, según el tipo de laboratorio, y servir de referencia a los niveles de menor complejidad.
- 2- Funciones relacionadas con el Programa Nacional de Control de Tuberculosis: coordinar sus actividades con los niveles superiores e inferiores, supervisar, brindar asesoramiento, capacitar y evaluar las actividades de acuerdo con las metas programadas.

CAPITULO I

TOMA DE MUESTRAS.

En el diagnóstico de la tuberculosis suele centrarse la atención en los problemas de las técnicas de microscopía mientras que a menudo se pasa por alto el tema de la obtención de muestras adecuadas. Para asegurar que los resultados sean exactos y fiables es preciso que la toma de muestras sea adecuada en calidad y cantidad, lo mismo que su almacenamiento y traslado al laboratorio.

ENVASES.

Un requisito previo esencial para la toma de muestras apropiadas es el envase. Los envases deben ser rígidos para evitar que se aplasten durante el traslado, tener boca ancha, tapón de rosca que permita taponarlos en forma hermética para evitar derrames y la contaminación.

Para facilitar la elección de un envase se recomiendan las especificaciones siguientes:

- ❖ De boca ancha: (no menos de 35 mm de diámetro), para que el paciente pueda expectorar cómodamente dentro del envase sin contaminar el exterior.
- ❖ Capacidad: de 35 – 40 ml.
- ❖ Transparente: para poder observar el volumen y la calidad de la muestra sin abrir el envase.
- ❖ De plástico: prevenir accidentes y facilitar su eliminación.
- ❖ Con tapa de rosca: a fin de asegurar un cierre hermético y reducir el riesgo de derrames durante el transporte.
- ❖ Fácil de rotular: lo que permitirá una identificación indeleble.

PROCEDIMIENTOS PARA LA TOMA DE LAS MUESTRAS.

Aunque M. tuberculosis puede causar enfermedades en casi cualquier órgano del cuerpo, en los países donde la prevalencia de tuberculosis es elevada, más del 85% de los casos son pulmonares.

El esputo es la muestra ideal para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar. Si se sospecha de enfermedades extrapulmonares pero se observan síntomas respiratorios será preciso tomar además de cualquier muestra de material extrapulmonar; también muestras de esputo..

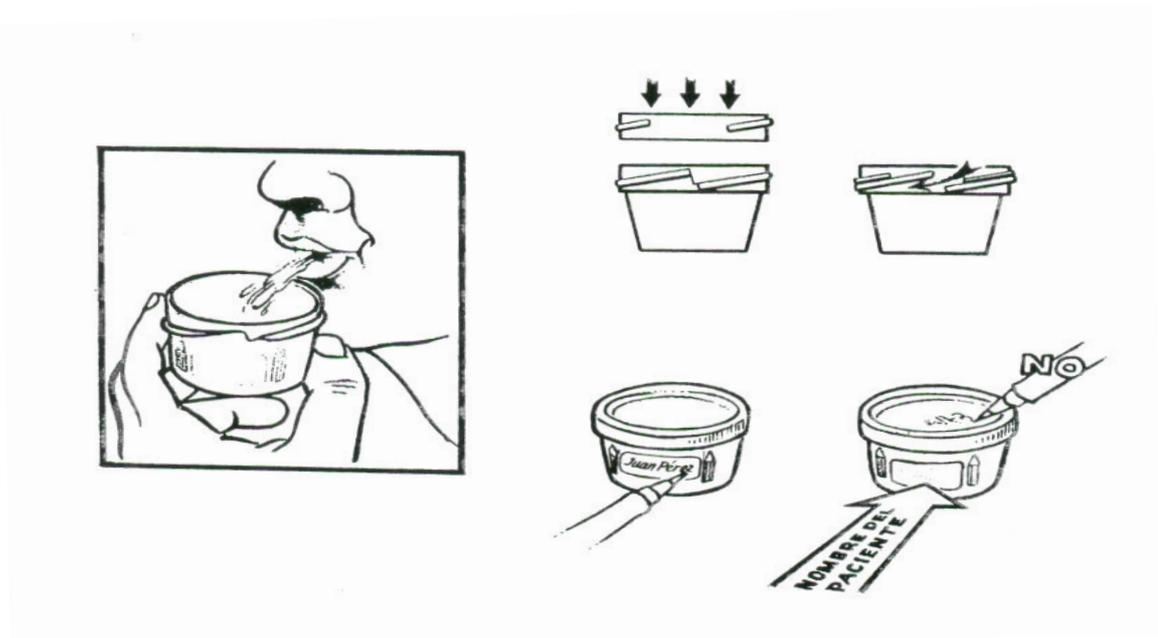
Para obtener una buena muestra de esputo es necesario dar al paciente instrucciones precisas. Cuando el paciente tose para producir una muestra de esputo pueden formarse aerosoles que contienen bacilos de la tuberculosis. Por consiguiente, los pacientes deben producir la muestra al aire libre o lejos de otras personas y no en locales con poca ventilación como los servicios sanitarios.

Algunos pacientes pueden presentarse directamente al laboratorio para el diagnóstico. Por consiguiente es conveniente que el personal de laboratorio conozca el método correcto para la obtención de la muestra de esputo.

TOMA DE MUESTRAS DE ESPUTO.

PROCEDIMIENTO.

- 1- Explicar al paciente la importancia de tomar una muestra de esputo.
- 2- Explicar al paciente que se enjuague la boca con agua antes de emitir la muestra. Esto contribuirá a eliminar restos alimenticios y cualquier contaminación bacteriana en la boca
- 3- Instruya 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 tres esputos, depositándolos dentro del envase que se le ha entregado, evitando que se escurra por sus paredes exteriores. La saliva fluida y clara, así como los exudados nasofaríngeos tienen poco valor diagnóstico para la tuberculosis; sin embargo, deberán ser procesados
- 4- Si el esputo es insuficiente, aliente al paciente a que tosa de nuevo hasta que obtenga una muestra satisfactoria. Recuerde que muchos pacientes no pueden producir un esputo de la parte profunda del sistema respiratorio en pocos minutos. Otórguele tiempo suficiente para que produzca una expectoración que el mismo paciente perciba que proviene de una tos profunda
- 5- Asegúrese que el envase esté bien cerrado y rotúlelo claramente en el cuerpo del envase (no en la tapa).



Como las lesiones causadas por la tuberculosis en los pulmones pueden drenar intermitentemente, es posible que una muestra sea negativa un día determinado y positiva al día siguiente. Por ese motivo, **para realizar el diagnóstico** deben recogerse 3 muestras de la siguiente manera:

- ❖ La primera: durante la primera entrevista (al ser captado el SR) una muestra de expectoración recolectada en el mismo lugar, después de haber tosido y aclarado en fondo de la garganta, bajo la supervisión de un miembro del personal, en un lugar bien ventilado, (nunca en el baño) independiente de la hora y de comida previa.
- ❖ La segunda, Se entrega al paciente (SR) un recipiente para recolectar una muestra matinal. (expectoración del siguiente día)
- ❖ La tercera, Durante la segunda entrevista (entrega de la segunda muestra), el paciente aporta su expectoración matinal y una nueva muestra de esputo que es recolectada en el mismo lugar.

También deben tomarse muestras periódicas para realizar el seguimiento del tratamiento, **baciloscopías de control**; al final del segundo, cuarto y sexto mes. (Se realizan 2 baciloscopías). Si el esquema es de ocho meses (retratamiento) se tomarán las baciloscopías de control al final del tercero, quinto y octavo mes de tratamiento.

Las muestras deben transportarse al laboratorio cuanto antes después de su obtención. Si no puede evitarse que el traslado se retrase, las muestras deben refrigerarse o mantenerse en un lugar lo más fresco posible para evitar el desarrollo de microorganismos contaminantes. (No dejar transcurrir más de 7 días entre la recolección y el examen)

Toda muestra para baciloscopía, debe ir acompañada de su respectiva hoja de: “Solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis (PCT 3)” la cual debe ser llenada correctamente. por el trabajador de salud que ordena la baciloscopía. Es necesario recordar que toda muestra que no sea esputo, debe ordenársele también cultivo; el cual se enviará lo más pronto posible al Laboratorio que lo realizará, ó mientras se envía, conservarla en refrigeración.

OTROS TIPOS DE MUESTRAS.

Como M. tuberculosis puede infectar casi cualquier órgano del cuerpo, el laboratorio podría recibir una variedad de muestras extrapulmonares, como: líquidos corporales, tejidos, pus, orina, etc. Las ventajas de la microscopía en estas muestras son limitadas y se recomienda remitirlas para su cultivo.

Orina:

La muestra obtenida de la primera micción de la mañana es la más recomendada, previa higiene externa. Con alguna frecuencia se suelen encontrar en las muestras de orina micobacterias saprofitas, por lo que cuando se trata de investigación para diagnóstico etiológico de tuberculosis urinaria, debe recurrirse al cultivo.

Número de muestras: mínimo 3 en días consecutivos.

Lavado gástrico:

Es posible hacer un exámen microscópico directo; pero existe el riesgo de confusión con micobacterias saprofitas; por lo cual, es recomendable cultivar siempre este tipo de muestra.

Número de muestras: 3 en días consecutivos.

Líquido céfalo-raquídeo y de otras serosas:

Estas muestras deben recibirse en envase estéril para sembrarlas de inmediato y sin previo tratamiento, porque como son muy pobres en micobacterias, cualquier tipo de manipulación significará disminuir aún más la cantidad de estos gérmenes.

TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Si el establecimiento de salud no realiza sus propios exámenes microscópicos, las muestras de esputo deben enviarse a otro laboratorio. El transporte debe realizarse dos o tres veces por semana. Cuanto más rápido llegue la muestra, mayor será la posibilidad de encontrar el M. tuberculosis, se recomienda no dejar transcurrir más de 7 días entre la recolección y el exámen, conservándola en un lugar fresco y protegido de la luz.

En el transporte de la muestra se consideran tres aspectos importantes:

- 1- protegerlas del calor excesivo;
- 2- protegerlas de la luz solar;
- 3- acondicionarlas de forma tal que no haya riesgo de que se derrame.

Para el traslado, las muestras deben llevarse en cajas herméticamente cerradas, con tabiques interiores (las proporcionadas por el PNCT), si no se dispone de ellas se puede usar una caja de cartón gruesa en la que se anotará la dirección del laboratorio al cual se envía y flechas verticales indicando la posición en que debe mantenerse. Las órdenes y demás formularios respectivos, deberán enviarse al mismo tiempo que las muestras, pero en un sobre aparte.

NUNCA DEBE REMITIRSE A LOS PACIENTES A OTRA UNIDAD SOLO PARA RECOLECTAR LAS MUESTRAS DE ESPUTO.

ENVIO DE MUESTRAS PARA CULTIVO.

Las muestras de esputo para cultivo deben recogerse en el mismo frasco recolector de esputos para baciloscopías; se recoge la muestra y se envía inmediatamente al laboratorio donde se realiza el cultivo. Las muestras de LCR y otras serosas, se recolectan en un tubo de ensayo estéril, con tapa de rosca; las biopsias se recolectan en un frasco estéril, sin agregarle ningún preservativo, pero se pueden conservar en solución salina estéril.

Si las muestras para cultivo no se pueden enviar inmediatamente al laboratorio de referencia, pueden almacenarse durante 3 a 4 días, en refrigeración, entre 4 a 8oC, sin embargo a mayor tiempo de almacenamiento, disminuyen las probabilidades de aislamiento del bacilo en el cultivo. Es preferible que el transporte de la muestra se realice en un termo con refrigerantes.

Toda muestra que se envíe al laboratorio de referencia para cultivo, debe de ir acompañada de la boleta de “Solicitud de examen bacteriológico de tuberculosis (PCT 3) debidamente llenada y con los resultados de las últimas baciloscopías realizadas a ese paciente, e indicando en el reverso de la boleta el motivo por el que se solicita el cultivo.

CUANDO ENVIAR UN CULTIVO.

1. Pacientes con alta sospecha de Tuberculosis Pulmonar cuya baciloscopía seriada es persistentemente negativa.
2. Para diagnóstico de Tuberculosis infantil.
3. Para confirmación diagnóstica de Tuberculosis extrapulmonar.
4. Fracasos o abandono de tratamiento.
5. Paciente que recae.
6. Pacientes VIH (+) con sospecha de tuberculosis.

RECEPCIÓN DE LA MUESTRA.

La recepción de las muestras se hará en una mesa utilizada exclusivamente para ese fin, y deberán aplicarse los procedimientos siguientes:

1. Para la recepción e inspección de las muestras utilice guantes desechables, si están disponibles.
2. Inspeccione la caja de transporte para verificar si se han producido derrames. Ábrala cuidadosamente. (Si hubieran derrames, envases rotos o con rajaduras, y éstas fueran muy importantes, proceda a ponerlos en un autoclave, quemarlos ó agregarles lejía al 10% por 30 minutos; y solicitar nueva muestra.)
3. Desinfecte la parte exterior de la caja de entrega utilizando algodón absorbente o papel toalla saturados con un desinfectante apropiado (por ejemplo, una solución de fenol al 5% ó lejía comercial al 10%).
4. Verifique que las muestras hayan sido rotuladas adecuadamente, con nombre ó números de identificación individuales, y que éstos correspondan a las boletas adjuntas.
5. Desinfecte el interior de la caja de envío, descarte los guantes y lávese las manos después de manipular los envases de muestras.
6. Notificar al servicio remitente la calidad y cantidad de las muestras y en la forma en que se hizo el envío..

CAPITULO II

EQUIPOS, MATERIAL Y REACTIVOS NECESARIOS.

EQUIPO.

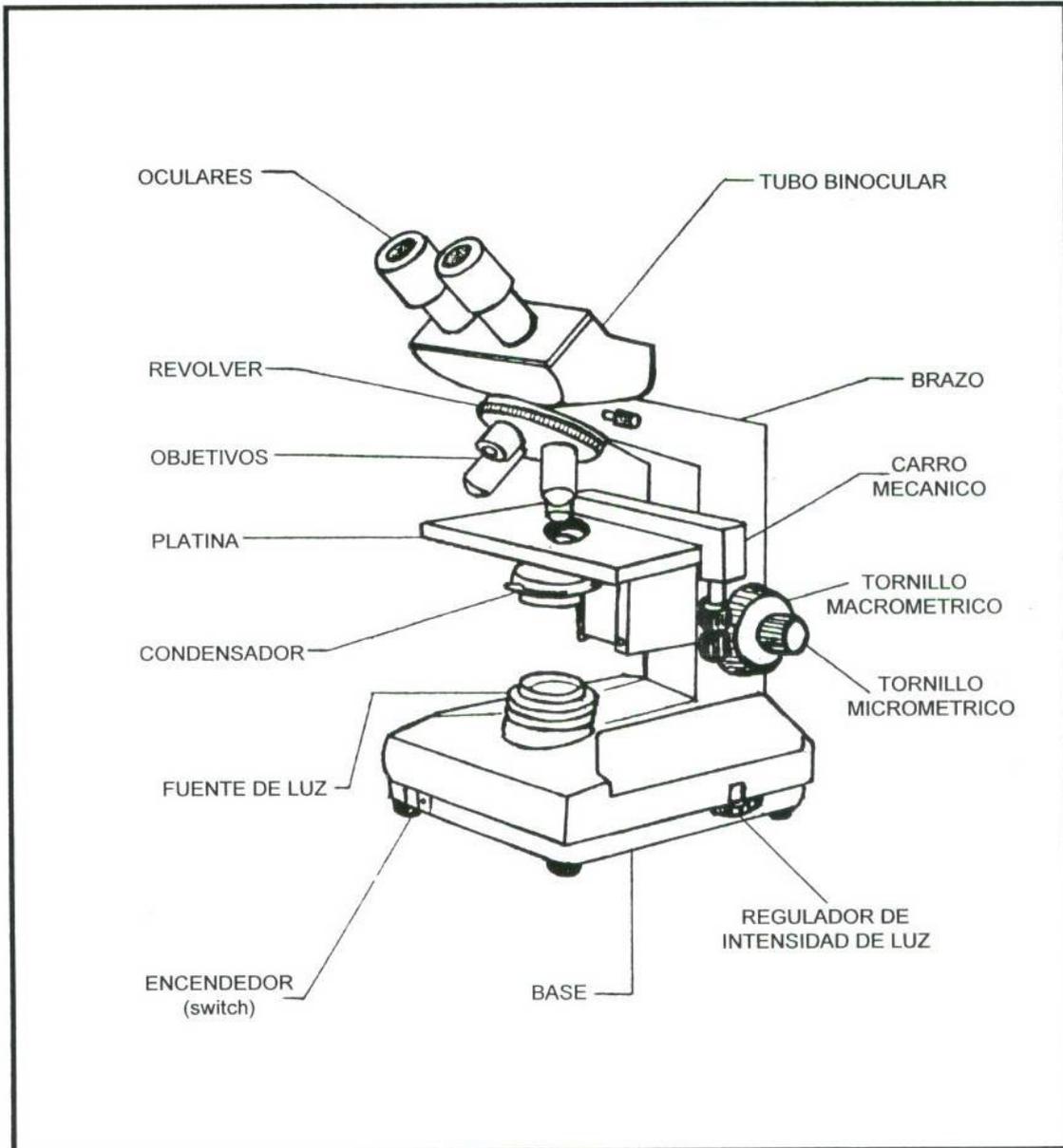
1. Microscopio binocular.
2. Mechero de alcohol o bunsen.
3. Reloj marcador de tiempo.

MATERIALES.

1. Varilla de coloración.
2. Bandeja metálica.
3. Olla con tapadera para descarte.
4. Aplicadores de madera.
5. Lámina portaobjeto 3 x 1 pulgada. (de preferencia esmerilada)
6. Frascos de vidrio ámbar para colorantes. (3)
7. Plumón indeleble..
8. Gradilla para láminas
9. Envases plásticos de 40 ml.
10. Papel filtro.
11. Embudos plásticos.
12. Papel toalla ó periódico..
13. Lapicero azul.
14. Lapicero rojo.
15. Cuaderno de registro de laboratorio. (PCT 4).
16. Toalla.
17. Fósforos.
18. Papel para lentes.
19. Jabón para manos
20. Algodón.
21. Caja para transporte de muestras
22. Lápiz grafito
23. Frascos lavadores.

REACTIVOS.

1. Fucsina fenicada. 0.3%
2. Alcohol ácido 3%
3. Azul de metileno 0.1%
4. Fenol 5% ó lejía comercial al 10%.
5. Alcohol de 95°
6. Aceite de inmersión. (Índice de refracción = 1.515-1.517. Viscosidad = 100-120)



Partes del Microscopio de Campo Claro

EL MICROSCOPIO.

El microscopio es el instrumento fundamental del trabajo en el laboratorio.

Como el ojo humano no puede ver los objetos de un diámetro menor que 0.1 mm, las bacterias individuales solo pueden detectarse con un microscopio. La función del sistema de aumento de la lente del microscopio es magnificar los objetos dentro del campo microscópico a un tamaño que pueda ser visto por el ojo humano. Además de la función de ampliación, intervienen otros dos factores de gran importancia: el contraste y la resolución. Para poder ver un objeto mediante un microscopio, aquel debe contrastar en cierta medida con el medio que lo rodea: para producir una imagen magnificada clara, el microscopio debe poseer un poder de resolución suficiente como para permitir la observación de los objetos individuales. El nivel de contraste puede aumentarse considerablemente con los procedimientos de tinción, es decir, el tratamiento con colorantes que se unen selectivamente a la célula entera o a ciertos componentes de ésta. La tinción acidorresistente se usa para obtener información sobre la composición de las paredes de las células de los bacilos de la tuberculosis. Los tipos de microscopía utilizados más comúnmente para examinar los bacilos acidorresistentes son la microscopía de campo claro y la microscopía de fluorescencia. En la microscopía de campo claro, la luz atraviesa los bacilos y la variación del color debida a la tinción permite ver la forma de los organismos.

Para el examen de los frotis teñidos se recomienda utilizar un microscopio binocular (es decir un microscopio con dos oculares).

PARTES DEL MICROSCOPIO

El microscopio que se utiliza en el laboratorio para el examen microscópico de las baciloscopías, es el microscopio compuesto de campo claro, al cual se le pueden agregar otros accesorios, para usarlo con campo oscuro o con contraste de fases.

El microscopio de campo claro, consta de las siguientes partes (fig. 1)

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.)

USO DEL MICROSCOPIO.

- ❖ Verifique si tiene partes rotas o dañadas.
- ❖ Asegúrese de que la fuente de iluminación esté bien regulada y centrada.
- ❖ Asegúrese de que las lentes, y otras superficies que transmiten luz estén bien limpios.
- ❖ Ajuste la luz, el condensador y el diafragma a fin de que llegue un haz de luz potente a la lente del objetivo.
- ❖ Gire el tornillo de ajuste grueso para alejar el objetivo de la platina.
- ❖ Rote el portaobjetos para ubicar un objetivo de poco aumento (4x ó 10x) directamente sobre el condensador.
- ❖ Coloque el portaobjetos en la platina de modo que el frotis esté directamente debajo del objetivo
- ❖ Mire la platina desde el costado para determinar qué distancia hay entre el portaobjetos y el objetivo. Gire lentamente el tornillo de ajuste grueso para acercar el extremo inferior del objetivo al frotis, evitando que se toquen.
- ❖ Ajuste la intensidad de la luz para que sea brillante pero no incómoda cuando se mira por el ocular. Esto puede lograrse modificando la intensidad de la lámpara, utilizando filtros oscuros, o ajustando el diafragma o el condensador. Generalmente es suficiente ajustar el diafragma.
- ❖ Mientras mira por el ocular, gire lentamente el tornillo de ajuste grueso para alejar el objetivo de la platina. Al cabo de unas pocas vueltas, el frotis debe aparecer en foco.
- ❖ Gire el tornillo de ajuste fino hasta que el frotis se vea más claramente.
- ❖ Mirando desde el costado, gire el portaobjetos para seleccionar una lente de mayor aumento. Asegúrese de que la lente no toque el portaobjetos. El frotis debería estar prácticamente en foco. El enfoque óptimo puede lograrse girando el tornillo de ajuste fino. También puede ser útil ajustar la luz. Asegúrese de que el condensador esté en la posición superior con el diafragma abierto.
- ❖ Para usar la lente de inmersión en aceite, gire el portaobjetos para que la lente esté ubicada sobre el frotis. Ponga una gota de aceite de inmersión en el frotis. (No toque el portaobjetos con el cuentagotas de aceite; deje caer libremente la gota de aceite sobre el frotis.
- ❖ Baje la lente de inmersión de 100x para que entre en contacto con el aceite. Desplace lentamente la lente de inmersión hacia arriba hasta que aparezca la imagen del frotis. Gire el tornillo de ajuste fino para enfocar.

A todo microscopio debe dársele cuidado y mantenimiento adecuado.

CUIDADOS DEL MICROSCOPIO.

- ❖ El microscopio como instrumento de precisión debe ser cuidadosamente conservado tanto su aspecto óptico como mecánico.
- ❖ Cuando no se usa debe estar siempre guardado en caja o protegido del polvo con una cubierta plástica ó de tela.
- ❖ Deberá estar ubicado en un sitio en que no existan reactivos químicos, emanaciones de gases corrosivos ó vibraciones.
- ❖ Debe evitarse que caiga aceite de inmersión sobre la platina.
- ❖ Debe evitarse que los objetivos para uso en seco toquen el aceite de inmersión, si esto sucede se deben limpiar inmediatamente.
- ❖ Para quitar el aceite del objetivo de inmersión debe utilizarse papel especial para lentes, un paño de seda o uno suave de algodón ligeramente humedecido, secando inmediatamente.
- ❖ El microscopio nunca debe desarmarse y si se observa algún defecto debe someterse a una revisión por un mecánico competente.
- ❖ Al término de cada jornada de trabajo, las partes ópticas deben limpiarse cuidadosamente, especialmente el objetivo de inmersión y dejarlo con algodón o papel absorbente; para evitar el exceso de aceite.
- ❖ Al cambiar el microscopio de lugar, se recomienda tomarlo del brazo para no arrastrarlo, evitando daños posteriores.

CAPITULO III

PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO.

Antes de empezar el trabajo, los técnicos deben lavarse las manos y colocarse una gabacha de protección.

Todas las manipulaciones para preparar el extendido se harán completamente sistematizadas, para lo cual la disposición del material y las muestras deben tener siempre el mismo orden.

Es recomendable que cada serie de muestras a procesar no sea superior a doce. Las láminas deben estar en buen estado (de preferencia nuevas) y desengrasadas previamente.

Inmediatamente que se recibe una muestra, se marca en el cuerpo del envase, así como la orden correspondiente.

Las etapas de preparación del extendido son las siguientes:

1- Colocar sobre la mesa de trabajo una hoja doble de papel periódico, humedecida con la solución de fenol al 5% (ó lejía comercial 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.

2- Se colocan las muestras sobre la mesa de trabajo en el área delimitada en línea horizontal.

3- Se toma la lámina y con un plumón indeleble # 90, que no sea de color rojo, se traza una línea que divide la superficie en una tercera parte destinada a la numeración, y dos terceras partes para el extendido. El número debe hacerse por la cara inferior de la lámina, para evitar que se borre al hacer la coloración. Una vez numerada se coloca frente al envase correspondiente. (Lo ideal es utilizar láminas esmeriladas y en ese caso se marcarán con lápiz 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.

4- Se destapa cuidadosamente sólo el envase 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 envase se coloca en el centro de la mesa de trabajo, 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.

5- 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, 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

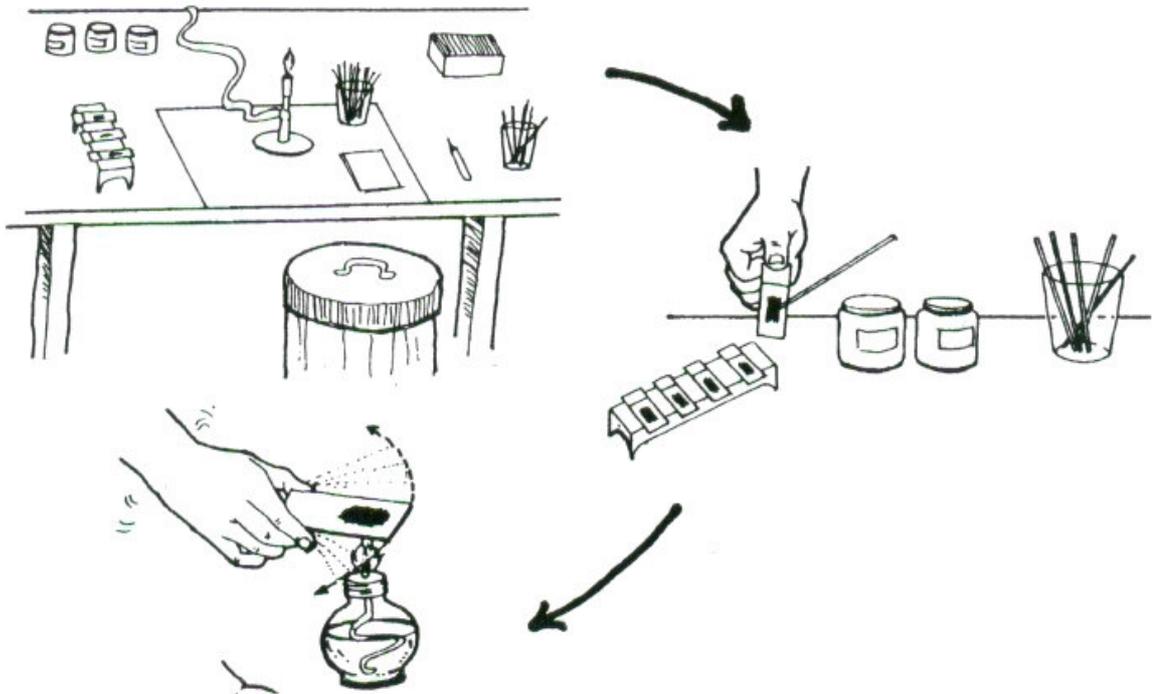
homogénea, es necesario tomar una partícula grande eliminando el sobrante con el mismo aplicador. Nunca debe calentarse la lámina mientras se está haciendo el extendido pues se forman aerosoles, existiendo el riesgo de infectarse a través de las vías respiratorias, además en el extendido se forman círculos concéntricos y precipitados granulados, la película pierde su homogeneidad dificultando la lectura.

6- Terminado el extendido se desechan los aplicadores en un recipiente con desinfectante. 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%.

7-Una vez secos los extendidos se fija la lámina, pasándola rápidamente sobre la llama tres veces, con el extendido hacia arriba.

8-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.

9-Al término del trabajo, el papel periódico, que constituye el área contaminada y los aplicadores usados, deben ser cuidadosamente descartados.



CAPITULO IV

COLORACIÓN.

La técnica aconsejada es la de **Zielh Neelsen.**

1-Filtrar e identificar los colorantes antes de utilizarlos.

2-Colocar la serie de láminas fijadas, conservando el orden numérico sobre la varilla que está en el lavabo, con el extendido hacia arriba separadas una de otra y con el número hacia el operador. Es conveniente que la varilla más cercana al operador esté ligeramente más alta que la otra, para impedir que los colorantes se deslicen hacia la parte de la lámina destinada al número y que éste se borre.

3-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 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 **5 minutos.**

Eliminar la fucsina tomando el portaobjetos por el extremo numerado e inclinándolo hacia delante, y lavar dejando caer una corriente de agua a baja presión sobre la parte en que no hay extendido, la que escurrirá suavemente sobre la película.

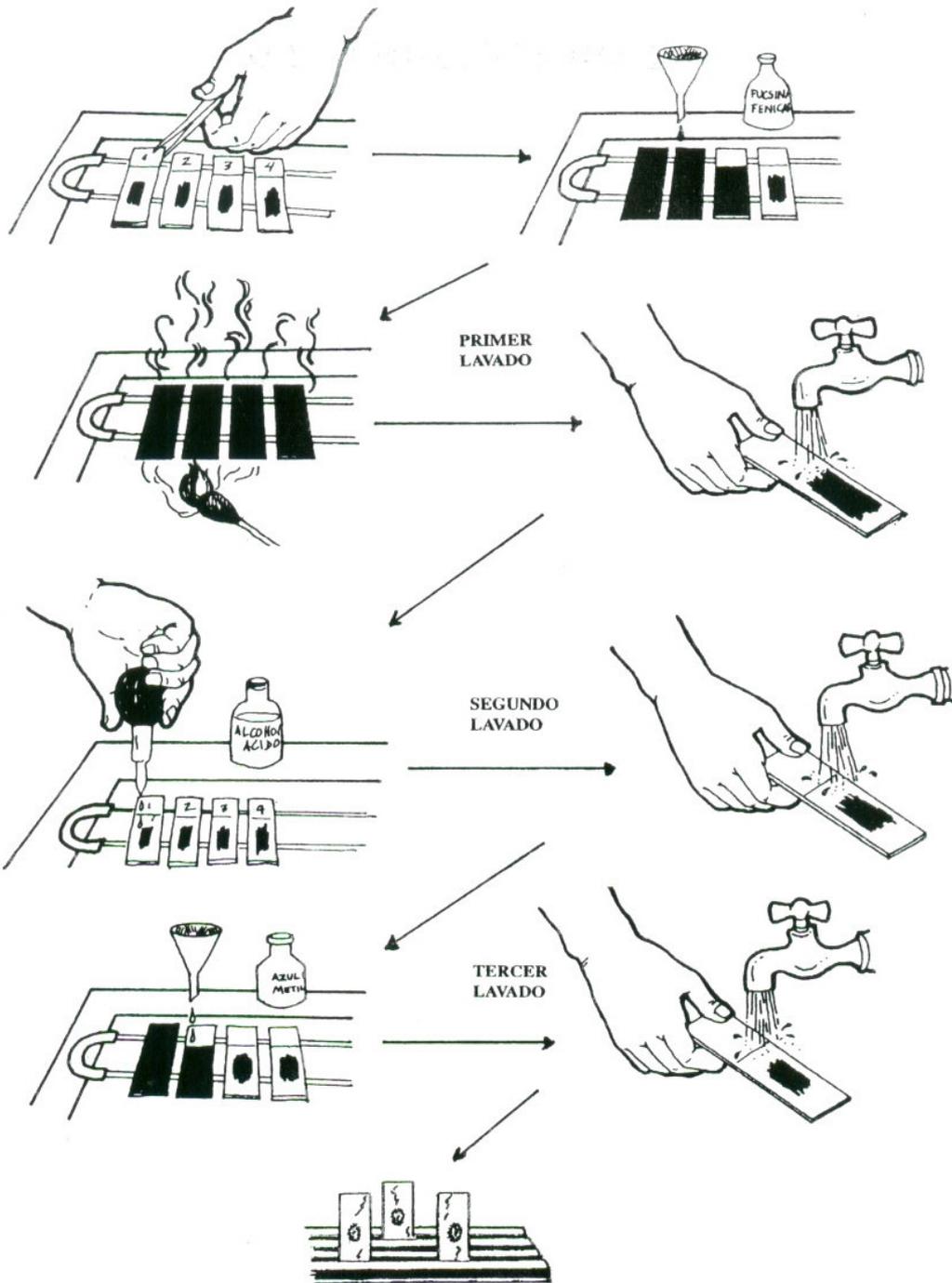
4-Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con alcohol ácido, tomar la lámina entre el pulgar y el índice y hacer un movimiento de vaivén de modo que el alcohol vaya decolorando y a la vez arrastrando suavemente la fucsina. Cuando el alcohol ácido adquiere coloración roja se elimina en la misma 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 **2 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.

5-Coloración de contraste. Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con azul de metileno y dejarlos de **30 segundos a 1 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 con el extendido hacia arriba hasta que se seque a la temperatura ambiente, conservando siempre el orden establecido.



CAPITULO V

EXAMEN MICROSCOPICO.

TÉCNICA DE LECTURA.

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

2-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.

3-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.

4-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.

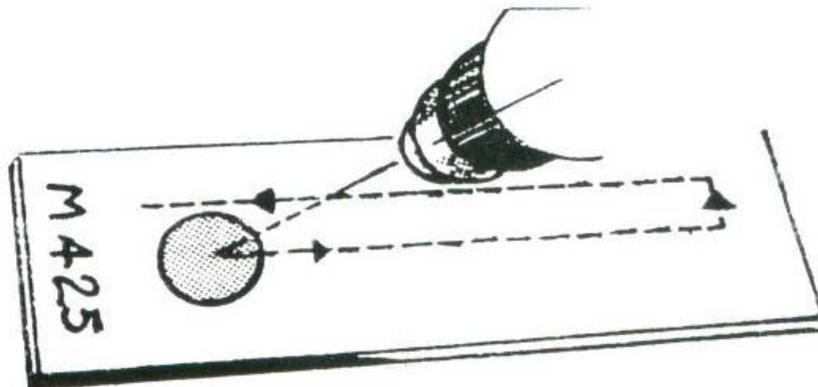
5-Cuando no se encuentren bacilos ácido-alcohol resistente (BAAR), en 100 campos; se debe hacer una nueva búsqueda más cuidadosa en otros 100 campos. Mover la lámina unos milímetros hacia atrás y leer una segunda longitud del mismo (de derecha a izquierda).

6-Los bacilos tuberculosos se observan como bastoncitos delgados y rojos, ligeramente curvos, más o menos granulosos, aislados, pareados o en grupos, destacándose claramente contra el fondo azul. Calcular el número de bacilos vistos por campo.

7-Al finalizar el exámen, separar el objetivo de la lámina, retirarla y verificar la identificación con el número grabado en la lámina y anotar el resultado en la hoja de reporte (PCT 3); posteriormente pasar los resultados a la PCT 4

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

9- 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. Por esta razón el informe debe ser no solo cualitativo sino cuantitativo.

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

NUMERO DE BACILOS ENCONTRADOS	CAMPOS DE INMERSIÓN OBSERVADOS	CODIGO DEL REPORTE
No se observan BAAR	100 campos	Negativo
0 – 1 BAAR/campo	100 campos	+
1 – 10 BAAR/campo	50 campos	++
>10 BAAR/campo	20 campos	+++

BAAR - Bacilos Ácido Alcohol Resistentes.

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

- a) Ampliar la lectura a otros 200 campos.
- b) Si con esta lectura no se encuentran más BAAR, hacer otro extendido de la misma muestra.
- c) 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 baciloscopías del laboratorio y solicitar una nueva muestra al paciente. Es conveniente hacer cultivo de aquellas muestras en las que se encontraron de 1 a 4 BAAR.

TODO RESULTADO POSITIVO, DEBE INFORMARSE INMEDIATAMENTE AL ENCARGADO DEL PROGRAMA DE CONTROL DE LA TUBERCULOSIS DEL ESTABLECIMIENTO DE SALUD-

CAPITULO VI

BIOSEGURIDAD

MEDIDAS DE PROTECCIÓN EN EL LABORATORIO.

Cada trabajador de laboratorio, es responsable de su propia seguridad y la de sus compañeros; sin embargo, el jefe del laboratorio, es el responsable del cumplimiento de las medidas de protección de todo su personal. La infección por Tuberculosis se adquiere esencialmente por la inhalación de micro aerosoles (gotitas muy finas que contienen bacilos de M. tuberculosis).

FUENTES COMUNES DE PRODUCCIÓN DE AEROSOLES EN LOS LABORATORIOS.

- La apertura de los frascos con muestras de esputo.
- Durante la preparación de los frotis.

MEDIDAS A CUMPLIR PARA LA MÁXIMA PROTECCIÓN DEL PERSONAL DE LABORATORIO.

- ❖ No ingerir alimentos y no fumar dentro del laboratorio.
- ❖ Evitar la entrada de personal ajeno al laboratorio.
- ❖ Usar siempre las gabachas de trabajo.
- ❖ Lavado frecuente de las manos con agua y jabón.
- ❖ Después de realizar el trabajo diario limpiar siempre las mesas con abundante fenol al 5% ó lejía comercial al 5% por 30 minutos.
- ❖ Se tendrá únicamente el equipo y elementos necesarios para el trabajo.
- ❖ El área de trabajo debe mantenerse limpia y ordenada con suficiente luz (natural o artificial) y buena ventilación.
- ❖ En el momento de realizar el extendido evitar las corrientes de aire.
- ❖ En caso de accidente, que se derrame una muestra en el piso o en la mesa de trabajo, colocar fenol al 5% ó lejía comercial al 10%, cubrir con papel periódico y empapar cuidadosamente el papel. Dejarlo durante 30 minutos antes de limpiar el área. Luego autoclavar el material.
- ❖ Todo material contaminado: láminas portaobjetos, frascos recolectores de esputo, etc antes de salir del laboratorio deben recibir algún 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.

DESINFECCIÓN Y ELIMINACIÓN DE MATERIAL CONTAMINADO.

Todo material contaminado (frascos recolectores de esputo, láminas portaobjeto, aplicadores de madera, etc.) antes de salir del laboratorio, deben haber recibido algún tratamiento de desinfección, para eliminar la posibilidad de contaminación de personas ajenas a éste.

La desinfección de los frascos recolectores de esputo, puede realizarse de diferentes maneras: a) meterse en la autoclave; b) agregarles fenol al 5% ó lejía comercial al 10% a cada frasco dejándolos hasta el siguiente día; c) hervirlos durante 15 minutos; y luego descartarlos, incinerarlos o enterrarlos.

Las láminas positivas y negativas, deben guardarse en una caja especial, después de haber limpiado el aceite, para ser enviadas posteriormente a su control de calidad según la norma establecida.

METODO DE LIMPIEZA DE LAMINAS. (PORTAOBJETOS)

1. Colocar las láminas usadas negativas en un recipiente con lejía comercial al 30%, durante 48 horas.
2. Lavar con agua corriente y detergente.
3. Enjuagar con agua destilada (preferiblemente).
4. Secar a temperatura ambiente o calor seco.

CAPITULO VII SUPERVISIÓN Y CONTROL DE CALIDAD.

La supervisión 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.

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..

Para supervisar es preciso contar con una base previa de normas técnico-operativas estándares empleadas para adiestrar al personal, que se recopilarán en los manuales de normas y procedimientos.

METODOS DE SUPERVISIÓN.

PROCEDIMIENTOS INDIRECTOS.

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

- ❖ Envío de muestras o laminas 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 ó al nivel central para comparar los resultados y evaluar la aplicación de la técnica baciloscópica. 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.

PROCEDIMIENTOS DIRECTOS.

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

SUPERVISIÓN TÉCNICA INDIRECTA DE LA BACILOSCOPIA.

Consiste en el envío de láminas desde el laboratorio local (supervisado) al laboratorio supervisor; y se basa en la comparación de resultados y la evaluación de la aplicación de la técnica baciloscópica en las láminas preparadas por los laboratorios en su trabajo de rutina. Los laboratorios de nivel intermedio tendrán bajo su supervisión a su red local y el laboratorio central, a los de nivel intermedio.

CONSERVACIÓN Y ENVIO DE LAS LAMINAS.

- ❖ 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 ó algodón. 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 supervisor, acompañadas de un listado en donde se indique: número total de láminas realizadas 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 enviarán la totalidad de láminas realizadas por el laboratorio durante el mes de enero).

EVALUACIÓN DE RESULTADOS.

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 decoloración; características de la tinción de fondo.

Toda la información generada en la supervisión técnica indirecta debe ser comunicada a los servicios.

SUPERVISIÓN ADMINISTRATIVA INDIRECTA.

La 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 PNCT 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, enfermos en tratamiento, etc.

La supervisión es una actividad prioritaria en el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis, a fin de mantener la calidad y eficiencia de la red de laboratorios que efectúan técnicas bacteriológicas de tuberculosis, y es una responsabilidad esencial del nivel central e intermedio.

ANEXOS.

- 1. TABLA DE CÁLCULO PARA ELABORAR EL PEDIDO DE MATERIALES.**
- 2. PREPARACIÓN DE REACTIVOS**
- 3. CAUSAS DE ERROR EN LA BACILOSCOPIA.**
- 4. INDICADORES OPERACIONALES**
- 5. INDICACIONES PARA EL LLENADO DEL LIBRO DE ACTIVIDADES DE LABORATORIO. (PCT 4).**
- 6. REGISTRO DE ACTIVIDADES DE LABORATORIO (PCT 4)**
- 7. SOLICITUD DE EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS (PCT 3)**

ANEXO 1.

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 PNCT. El pedido se efectúa cada 3 meses preferiblemente.

❖ Frascos recolectores	1 por baciloscopia
❖ Láminas portaobjeto	1 por baciloscopia
❖ Aplicador de madera	2 por baciloscopia
❖ Papel para limpiar lentes	1 por cada 10 baciloscopías.
❖ Solución de fenol al 5% ó lejía Comercial al 10%	500 ml por mes.
❖ Aceite de inmersión	1 gota = 0.05 ml por baciloscopia.
❖ Alcohol para mechero	1 litro por mes.
❖ Plumón indeleble # 90.	1 cada 3 meses.
❖ Fucsina fenicada	5 ml por baciloscopia.
❖ Alcohol-ácido	5 ml por baciloscopia.
❖ Azul de metileno.	5 ml por baciloscopia.

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

ANEXO 2.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS.

FUCSINA FENICADA.

3 g de fucsina básica
100 ml., de alcohol de 95°
55 ml de fenol acuoso.*
Se agita y se agrega agua destilada hasta completar un litro, se deja reposar 24 hr., y se filtra.
(* Fenol acuoso: 100 g de fenol cristalizado y 10 ml de agua destilada, se calienta en baño de maría hasta completa disolución, luego se enfría.

AZUL DE METILENO.

1 g de azul de metileno
100 ml de alcohol de 95°
Se disuelve por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Se deja reposar 24 h y se filtra.

SOLUCION DECOLORANTE.

30 ml de ácido clorhídrico para análisis.
970 ml 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 4.

INDICADORES OPERACIONALES.

% DE SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS EXAMINADOS POR EL LABORATORIO.

$$\frac{\text{SR EXAMINADOS (M 40)} \times 100}{\text{TOTAL DE CONSULTA > DE 10 AÑOS 1ª VEZ}} \quad \text{V.E.} = 5 - 7\%$$

INDICE DE POSITIVIDAD EN SINTOMÁTICOS RESPIRATORIOS

$$\frac{\text{CASOS DE TBP BK (+)} \times 100}{\# \text{ DE SR EXAMINADOS}} \quad \frac{\text{M 40 (BK +)} \times 100}{\text{M 40}} \quad \text{V.E.} = 5\%$$

CONCENTRACIÓN DE BACILOSCOPIAS / SR.

$$\frac{\text{TOTAL DE BK DE DIAGNOSTICO}}{\text{SR EXAMINADOS POR EL LABORATORIO}} \quad \frac{(\text{M 40} + \text{M 42})}{\text{M 40}} \quad \text{V.E.} = 3$$

RENDIMIENTO TECNICO

$$\frac{\text{TOTAL DE BK (+) DE DIAGNOSTICO} \times 100}{\text{TOTAL DE BK DE DIAGNOSTICO}} \quad \frac{\text{M 40 (BK+)} + \text{M 42 (BK+)} \times 100}{\text{M 40} + \text{M 42}} \quad \text{V.E.} = 5\%$$

No. DE BK REALIADAS POR CASO

$$\frac{\text{TOTAL DE BACILOSCOPIAS DE DIAGNOSTICO REALIZADAS}}{\text{TOTAL DE CASOS BK (+)}}$$

% DE CASOS CON CONFIRMACIÓN BACTERIOLÓGICA.

$$\frac{\text{CASOS DE TBP BK (+)} \times 100}{\text{CASOS DE TBP}} \quad \text{V.E.} = 60 - 70\%$$

% DE PACIENTES SIN CONFIRMACIÓN DX DE LABORATORIO

$$\frac{\text{CASOS NO EXAMINADOS POR BK} \times 100}{\text{CASOS DE TBP}} \quad \text{V.E.} = 0\%$$

V.E. = Valor esperado.

Interpretación de indicadores de laboratorio:

- Concentración: mide el número de Bk por cada S.R.
- Rendimiento técnico de laboratorio: mide el porcentaje de Bk (+) del total de Bk de diagnóstico realizadas
- No. de Bk realizadas por caso: mide el número de Bk realizadas para encontrar un caso Bk positivo

ANEXO 5

INDICACIONES PARA EL LLENADO DEL LIBRO DE ACTIVIDADES DE LABORATORIO. (PCT 4).

a) El presente libro de registro de Sintomáticos Respiratorios (SR) investigados por el Laboratorio (PCT-4), es un instrumento de información oficial del Programa de Prevención y Control de la Tuberculosis de El Salvador, el cual debe ser adecuadamente llenado y conservado.

b) Se considera Sintomático Respiratorio investigado al usuario mayor de 10 años que presenta tos con o sin expectoración por más de 15 días de evolución, que es captado en la consulta externa, emergencia, hospitalización, centros penales o en la comunidad y que lleva muestra de esputo al laboratorio y es procesada por éste.

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

d) Separar la información cada mes y totalizarlo para hacer los consolidados mensuales y trimestrales.

SIBASI:

Anotar el nombre correspondiente

ESTABLECIMIENTO DE SALUD:

Anotar el nombre del establecimiento de salud de la red del Ministerio de Salud u otra institución que cuenta con el PCT y capta S.R.

LABORATORISTA ENCARGADO/A DEL PCT:

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

1. FECHA:

Anotar con números el día que procesa la muestra.

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

3. NOMBRE Y APELLIDOS:

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

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 baciloscopias, y para control son dos baciloscopias por paciente y cada una tiene que llevar un número diferente.

Iniciar con el número 1 el registro de baciloscopias 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

8,9 y 10 BACILOSCOPIAS DIAGNOSTICAS S.R:

Anotar los resultados de las muestras con color rojo, si es positivo y el número de cruces (+) (++) (+++); si es negativo escribir con una N con cualquier otro color en la casilla según corresponda (1ra., 2da., 3ra.) muestra.

11, 12,13 BACILOSCOPIAS DE CONTROL DE TRATAMIENTO:

Anotar los resultados de baciloscopias 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 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 2da., 4ta. Y 6ta. Respectivamente, y anotar en observación retratamiento.

17. TIPO DE MUESTRA:

Anotar el tipo de muestra recibida, Ej. Espujo, aspirado gástrico o cualquier otra muestra a la que se le solicita hacer BK.

OBSERVACIONES:

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

ES FUNCION DEL ENCARGADO DEL PROGRAMA DE LABORATORIO:

- ❖ Comparar su información con el encargado de Programa de TB del establecimiento para evaluar el # de SR que consultaron y el # de Bk que se realizaron.
- ❖ Separar la información cada mes, trazando una línea roja y totalizarlo para hacer los consolidados mensual y trimestral
- ❖ Enviar al Laboratorio Central todas las baciloscopias realizadas en el mes; para su respectivo control de calidad, durante la primera semana del mes siguiente. (Ej. Las baciloscopias realizadas en Enero se enviarán la 1ª semana del mes de Febrero.).

SR = Sintomático respiratorio.

BK = Baciloscopias.

TBP = Tuberculosis pulmonar.

BAAR = Bacilos ácido-alcohol resistentes.

ANEXO 7



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: _____		N.º de Exp. _____ VIH (+) <input type="checkbox"/> VIH (+) <input type="checkbox"/> Pendiente <input type="checkbox"/>	
Edad: _____	Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Procedencia: Consulta Externa <input type="checkbox"/>	Emergencia <input type="checkbox"/> Hospitalización <input type="checkbox"/>
Dirección Exacta: _____			
Nombre del solicitante: _____		Fecha de Indicación: _____	
Tipo de muestra: ESPUTO <input type="checkbox"/> OTRA <input type="checkbox"/> Especificar _____		1ra.	2da.
EXAMEN SOLICITADO			
BACILOSCOPIA EN SR. <input type="checkbox"/>	CULTIVO PARA DIAGNÓSTICO <input type="checkbox"/>	CULTIVO DE CONTROL <input type="checkbox"/>	ver indicaciones al dorso
EXAMEN PARA CONTROL DE TRATAMIENTO ACTUAL			
DROGAS: H <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> Z <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> NUMERO 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
↓

INDICACIONES DE CULTIVO (Y SENSIBILIDAD)

El cultivo del M. 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 indicaciones:

- 1. Paciente con alta sospecha de Tuberculosis Pulmonar cuyas baciloscopias seriadas son persistentemente negativas.**
- 2. Para diagnóstico de Tuberculosis Infantil**
- 3. Para confirmación de diagnóstico de tuberculosis Extrapulmonar**
- 4. Caso de VIH positivo y sospecha de tuberculosis**
- 5. Sospecha de Fracaso o Abandono recuperado**
- 6. Paciente que recae por tratamiento**

Marque con una X la indicación que corresponda: 1 _____ 2 _____ 3 _____ 4 _____ 5 _____
6 _____

Nota: - No olvide que el informe de los resultados se dará a los 30 ó 45 ó 60 días y nunca antes
 - No se requiere cultivo para alta de pacientes

Nombre del médico solicitante: _____

Firma del solicitante: _____

BIBLIOGRAFÍA.

1. ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGIA. Infecciones de las vías aéreas inferiores. Argentina. Agosto. 1999.
2. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Procedures for the Isolation and Identification of Mycobacterium. Atlanta. Georgia. 1981.
3. INSTITUTO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA “CARLOS G. MALBRAN”. Manual de Procedimientos para el estudio de Tuberculosis y otras Micobacteriosis. 3° Edición. Argentina. 1993.
4. MINISTERIO DE SALUD DE EL SALVADOR. Programa Nacional de Prevención y Control del la Tuberculosis. Normas de Prevención y Control de la Tuberculosis. 2000.
5. MINISTERIO DE SALUD DE EL SALVADOR. LABORATORIO CENTRAL. Guía técnica para el diagnóstico de la tuberculosis por microscopía directa. El Salvador. 1991.
6. MINISTERIO DE SALUD DE NICARAGUA. CENTRO NACIONAL DE HIGIENE Y EPIDEMIOLOGIA. Manual de Normas Técnicas para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscopia. 3° Edición. Nicaragua. 1996.
7. MINISTERIO DE SALUD DE PERU. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. CENTRO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD PÚBLICA. Manual de Normas y Procedimientos en Bacteriología de Tuberculosis. Perú. Mayo. 1995.
8. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Los servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis. II Microscopía. 1998.
9. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Bacteriología de la tuberculosis: La muestra. El examen microscópico. Comité Asesor OPS/OMS. Nota técnica No. 26. 1984.
10. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Bacteriología de la Tuberculosis. La Organización de los Laboratorios, Medidas de Bioseguridad. Comité Asesor OPS/OMS. Nota técnica No. 29. 1987.
11. UICTER. Guía de la tuberculosis para los países de escasos recursos económicos. 4° Edición. Francia. 1996.
12. UICTER. The Public Health Service Nacional Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. Noviembre 1998

PARTICIPANTES EN LA ELABORACIÓN DE ESTA GUÍA.

- ❖ Lic. Ana Margarita Ramírez L. Programa de Tuberculosis.
Laboratorio Central.
- ❖ Lic. Fidelia de Platero. Programa de Tuberculosis
Laboratorio Central.
- ❖ Lic. René Guevara H. Supervisor de Laboratorio del
PNCT. MSPAS.
- ❖ Dr. Matías Villatoro R. Supervisor del Programa Nacional
de Tuberculosis. MSPAS.
- ❖ Lic. Ana María de Mendoza ETZ Metropolitana
- ❖ Lic. Margarita Rousselin. SIBASI La Libertad.
- ❖ Lic. Herminia Vásquez de López ETZ Paracentral.
- ❖ Lic. Sonia de Guatemala SIBASI San Miguel.
- ❖ Lic. Yanira E. Meléndez C. Hospital Nacional Saldaña.
- ❖ Lic. Yolanda M. de Taura. Hospital Nacional Rosales.
- ❖ Lic. Alcira Marisol de Rodríguez Hospital Nacional de Cojutepeque
- ❖ Lic. Lorena A. Villacorta L. Hospital Nacional de La Unión
- ❖ Lic. Mercedes Ventura. Hospital Nacional San Miguel.
- ❖ Lic. Rebeca T. de Albanéz. Hospital Nacional de Ahuachapán.
- ❖ Lic. Luis Mario López Rodas. Hospital Nacional de Santa Ana.
- ❖ Lic. Delmi Linares de Brito. Unidad de Salud Tonacatepeque.
- ❖ Lic. Ana A. Yassin de Martínez. Unidad de Salud Mejicanos.
- ❖ Lic. Yanira Martínez Chavarría. Unidad de Salud El Tránsito.
- ❖ Lic. María Guadalupe de García. Unidad de Salud Dr. López Vigil
- ❖ Lic. Alicia Josefina Morán. Unidad de Salud Dr. Roberto Batista
Mena.
- ❖ Lic. Ena Yolanda González P. Supervisor Metropolitano. ISSS.
- ❖ Lic. Orlando Gálvez Castaneda. Unidad Médica Atlacatl ISSS.
- ❖ Lic. Ana Ruth Zacarías Bolaños. Unidad Médica Ilopango ISSS.

Esta Guía ha sido elaborada con el apoyo financiero de USAID, a través del Proyecto TBCTA.

Versión corregida

Consta de 250 ejemplares.