



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
RED NACIONAL INTEGRADA DE LABORATORIOS DE SALUD
PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE TUBERCULOSIS



MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS
EN BACTERIOLOGIA DE TUBERCULOSIS

LIMA - PERU
1992

MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE TUBERCULOSIS

MANUAL DE NORMAS Y PROCEDIMIENTOS EN BACTERIOLOGIA DE LA
TUBERCULOSIS

NORMA TECNICA Nº1

LABORATORIO DE REFERENCIA DE TUBERCULOSIS

LIMA-PERU

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| INTRODUCCION | 7 |
| CAPITULO I | |
| LA MUESTRA | 7 |
| 1. LA MUESTRA DE EXPECTORACION (ESPUTO) | 7 |
| 2. MUESTRAS EXTRAPULMONARES. | 11 |
| 3. CONSERVACION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA | 13 |
| CAPITULO II | |
| LA BACILOSCOPIA (EXAMEN MICROSCOPICO) | 15 |
| 1. AMBIENTE Y MATERIAL DE TRABAJO DE LABORATORIO | 15 |
| 2. PREPARACION DEL EXTENDIDO | 16 |
| 3. COLORACION | 20 |
| 4. OBSERVACION MICROSCOPICA | 24 |
| 5. METODO DE LECTURA | 26 |
| 6. ELIMINACION DE LOS MATERIALES CONTAMINADOS | 28 |
| 7. REUTILIZACION DE LAS LAMINAS USADAS | 29 |
| 8. REGISTRO DIARIO DE BACILOSCOPIA | 29 |
| 9. INFORME BACILOSCOPICO MENSUAL Y TRIMESTRAL | 29 |
| CAPITULO III | |
| MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD | 30 |
| 1. OPERACIONES DE MAYOR RIESGO | 30 |
| 2. CONDICIONES GENERALES EN EL LABORATORIO | 30 |
| 3. PRECAUCIONES EN EL TRABAJO | 31 |
| 4. MEDIDAS EN CASO DE ACCIDENTES | 31 |
| 5. SUPERVISION SANITARIA | 32 |
| CAPITULO IV | |
| CUIDADO Y CONSERVACION DEL MICROSCOPIO | 33 |
| ANEXO 1: PREPARACION DE LOS REACTIVOS | 35 |
| ANEXO 2: SOLICITUD DE INVESTIGACION BACTERIOLOGICA PARA T.B.C. (Baciloscopia - Cultivo) | 36 |
| ANEXO 3: REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACION BACTERIOLOGICA EN T.B.C. | 37 |
| ANEXO 4: SOLICITUD DE MUESTRA PARA CULTIVO Y SENSIBILIDAD | 38 |
| ANEXO 5: INFORME BACILOSCOPICO MENSUAL | 39 |
| ANEXO 6: CANTIDAD DE REACTIVOS Y CALCULO DEL MODULO INDIVIDUAL | 40 |
| ANEXO 7: PROGRAMACION POR MODULO INDIVIDUAL | 41 |
| REFERENCIA BIBLIOGRAFICA | 43 |

INTRODUCCION

El Laboratorio de Bacteriología de la Tuberculosis es importante no sólo por el rol que desempeña en el diagnóstico de la enfermedad, sino también en el control de la evolución del tratamiento así como la evaluación epidemiológica y operacional.

El Laboratorio tiene como función principal la localización de fuentes de infección a través de la baciloscopía que viene a ser una técnica básica, sencilla, eficaz y de bajo costo, debiendo ser usado preferentemente en los sintomáticos respiratorios y luego, según los recursos en contactos y grupos de alto riesgo.

La elección de la técnica básica más conveniente y su estandarización permitirá obtener resultados comparables en todo el país, además de facilitar la capacitación y lograr una mayor cobertura. La aplicación de esta técnica en buenas condiciones debe garantizar los resultados obtenidos.

El propósito de este Manual es proporcionar al personal profesional, técnico y auxiliar de la salud la información sobre procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis dentro del sistema de la Red Nacional Integrada de Laboratorios de Salud.

El presente Manual fue aprobado en el Seminario Taller Nacional "Organización y Participación del Laboratorio en el Programa de Control de Tuberculosis", realizado en Abril de 1991, y revisado por los responsables del laboratorio de Referencia Nacional de Tuberculosis en coordinación con el Programa Nacional de Control de Tuberculosis.

CAPÍTULO I

LA MUESTRA

1. LA MUESTRA DE EXPECTORACION (ESPUTO)

MÉTODOS DE OBTENCIÓN

1.1 EXPECTORACION NATURAL

1.1.1 Calidad:

Una buena muestra es aquella que proviene del árbol bronquial, obtenida después de un esfuerzo de tos. Sin embargo, una muestra con apariencia de saliva puede ser positiva.

1.1.2 Cantidad:

La muestra debe ser suficiente (10 ml. aproximadamente).

Si el enfermo tiene escasa secreción, la muestra no debe ser inferior a 3 esputos, salvo justificadas excepciones.

1.1.3 Momento de Recolección:

Se recomienda analizar dos o tres muestras de cada sintomático respiratorio. La muestra debe obtenerse en el momento de la consulta y la segunda al día siguiente, al despertar por la mañana. Sin embargo, puede ser necesario una tercera muestra al momento de entregar al laboratorio la segunda muestra.

Para el control del tratamiento examinar una muestra mensualmente mientras dure el tratamiento.

1.1.4 El Envase:

Un buen envase debe tener las siguientes cualidades:

- Boca ancha (aproximadamente 5 cm. de diámetro y 5 cm. de altura). Así, el paciente expectorará fácilmente dentro del envase y al hacer el examen permitirá elegir la partícula útil.
- Tapa de rosca para disminuir el riesgo de que la muestra se derrame durante el transporte y también para evitar la producción de aerosoles al abrirla en el laboratorio. No debe rotularse la tapa.
- Pared lisa para favorecer su rotulación y así la correcta identificación del envase.
- Material desechable para evitar error de laboratorio, pues favorece su incineración y evita la reutilización.

NOTA: de no contarse con el envase con las características referidas anteriormente, puede utilizarse frascos de vidrio de boca ancha con tapa rosca; pero antes de desecharlos someterlos a esterilización en autoclave.

1.1.5 Obtención de la muestra:

- En el momento de la consulta:

1. Tomar un envase limpio para esputo y anotar el número de orden en el cuerpo del envase.
2. Entregar el envase rotulado al paciente, pero conservar la tapa. Llevar al paciente al sitio donde se recoge el esputo.
3. Explicar al paciente el motivo por el cual tiene que depositar el esputo y a continuación demostrar como hacerlo. Mediante la explicación sencilla, instruir al paciente para enjuagarse bien la boca y luego produzca esputo respirando profundamente, reteniendo aire y lanzándolo violentamente. Repetir el procedimiento hasta obtener la cantidad adecuada. Evitar siempre que se derrame.

Muestra matinal:

Las etapas son en esencia las mismas que las descritas para muestras en el momento de la consulta, debe darse al paciente otro recipiente numerado con instrucciones para que escupa en su interior poco después de levantarse por la mañana, siempre antes del desayuno. Debe colocar el envase con la tapa bien cerrada en una bolsa plástica y llevarlo al laboratorio inmediatamente.

1.2. EXPECTORACION INDUCIDA

Cuando el paciente no logra expectorar y es necesario el examen del esputo, se puede inducir la obtención de muestra de la siguiente forma:

1.2.1 Obtención Postural:

Acostar al paciente boca abajo sobre una camilla o cama, haciendo que su cabeza rebase el borde; colocar una almohada doblada debajo del tórax, para lograr un plano inclinado que facilite el descenso de la secreción. El paciente coloca la base del tórax sobre la almohada, deja caer ambos brazos y la cabeza hacia el piso, de modo que la base del tórax quede más alta que la boca. Estando en la posición apropiada, se dice al paciente que inspire, retenga el aire y expire violentamente hasta conseguir la expectoración; el envase, deberá estar sobre un recipiente o papel periódico en el piso.

1.2.2 Nebulizaciones

Se nebuliza en la garganta con agua destilada. Se recoge la primera expectoración producida después de la nebulización y se entrega otro envase al paciente para que recoja esputos en las siguientes 24 horas.

1.2.3 Lavado Bronquial

Es un procedimiento invasivo y está reservado al médico especialista neumólogo; además de obtener muestras para baciloscopia es preciso cultivarlas.

También debe instruirse al paciente para que recoja la expectoración de las 24 horas siguientes.

1.2.4 Hisopado Laríngeo:

La toma de muestra debe estar reservado al especialista. Su proceso es obligatoriamente por cultivo, debido al escaso número de bacilos. Se debe tomar 2 hisopados diarios en 3 días consecutivos. La muestra debe procesarse de inmediato y en caso contrario, conservar en refrigeración no más de 24 horas. El procedimiento puede estimular la expectoración, por lo que es necesario tener un envase recolector.

2. MUESTRAS EXTRAPULMONARES.

Deben procesarse por cultivo, pues la escasa cantidad de bacilos así como la presencia de micobacterias saprofitas, hacen que la baciloscopía no sea concluyente.

2.1 Orina.

La muestra obtenida en la primera micción de la mañana es la más recomendada, previa higiene externa con agua y jabón. Es preferible recolectar entre 300-500 ml. en envase limpio y estéril de boca ancha, para facilitar la recolección directa. La muestra debe ser procesada inmediatamente siempre por cultivo, pues existen micobacterias saprofitas en orina. Se sugiere examinar por lo menos tres muestras seriadas.

2.2 Jugo Gástrico.

La recolección se hace por la mañana con el paciente en ayunas, utilizando una sonda nasogástrica por la que se aspira jugo gástrico. Utilizar una jeringa de 20 a 50 ml. Vaciar la muestra en un envase limpio de 50 a 100 ml. de capacidad. Cultivar de inmediato o conservar en

incubación no más de 6 horas. Mínimo se debe tomar 3 muestras. Su utilización es más frecuente en niños.

2.3 Líquidos de serosas (pleura-peritoneo)

La muestra es obtenida por el personal médico. El cultivo debe hacerse lo más rápido posible, así como el estudio bacilosκόpico. Se debe procesar todo el líquido extraído por aspirado en jeringas de 50 a 100 ml.

2.4 Líquido cefaloraquídeo.

La obtención de la muestra está reservada al personal médico. Obtenida la muestra en un volumen de aproximadamente 5 ml., una parte se cultiva inmediatamente luego de haberlo centrifugado, no precisa descontaminación previa. Si la primera parte de la muestra está contaminada, la otra parte se siembra luego de su descontaminación. Si el volumen de la muestra es pequeña, se siembra toda la muestra. En todos los casos se hará baciloscopia del sedimento luego de centrifugar.

2.5 Biopsias y material resecado.

Se utiliza un envase estéril. La muestra se divide en dos partes: una parte se envía de inmediato al Laboratorio para el cultivo y la otra para el estudio histopatológico en un frasco con formol al 10%.

3. CONSERVACION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA:

- Conservación de la Muestra:

La mayor posibilidad de encontrar M. Tuberculosis está en relación directa con la rapidez con que la muestra llega al laboratorio. La temperatura ambiente y el tiempo favorece la multiplicación de los gérmenes habituales de la boca, dificultando la elección de la partícula útil por desnaturalización de las proteínas y puede destruirse el bacilo.

La muestra, después de su recolección, debe procesarse cuanto antes. La muestra de esputo para baciloscopia mantiene su positividad por un tiempo prolongado; mientras para cultivo el material debe procesarse de inmediato, porque habrá mayor probabilidad de aislar los bacilos que pueden existir en la muestra. Si no es posible procesar el mismo día de recepción de la muestra, debe guardarse en refrigeración a 4°C. Cuando el envío se hace a temperatura ambiente el lapso entre la toma de la muestra del esputo y su procesamiento no debe ser mayor de una semana, en caso de cultivo.

En caso que el Laboratorio no pueda procesar ni conservar la muestra para baciloscopia, se recomienda adicionar de 5 a 10 gotas de fenol al 5% antes de realizar el extendido, a fin de evitar riesgos de infección al transportar y manipular láminas extendidas y fijadas. Luego enviar al Laboratorio más cercano envolviendo con papel cada lámina por separado y adjuntando la nómina correspondiente.

- Transporte de la Muestra:

En el transporte de la muestra se debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Proteger del calor excesivo.
- Proteger de la luz solar.
- Acondicionar los envases sellando las tapas con esparadrapo para evitar que se derrame.

Para el Transporte es conveniente disponer de cajas de madera u otro material resistente con divisiones interiores.

Indicar con una flecha la posición que deben mantener los envases y poner una etiqueta con la dirección exacta del laboratorio.

- **Recepción de la muestra:**

Comprobar que las muestras estén bien rotuladas y correspondan las solicitudes de examen. Limpiar el envase con fenol al 5% si existe un pequeño derrame del contenido; si el derrame es masivo se debe desechar la muestra por incineración o esterilización en autoclave. Notificar al establecimiento de salud que envía las muestras si hubo deficiencia en su identificación, calidad, cantidad o en la forma del envío.

CAPITULO II

LA BACILOSCOPIA (EXAMEN MICROSCOPICO)

La Baciloscopia es el examen básico para el diagnóstico de la Tuberculosis y también el control de la evolución del tratamiento por lo que su conocimiento debe alcanzar a todos los niveles de los servicios de salud del País.

1. AMBIENTE Y MATERIAL DE TRABAJO DE LABORATORIO

En las instituciones de salud de mayor envergadura se debe contar en lo posible con un ambiente de tamaño suficiente para el laboratorio. Este debe tener una distribución adecuada para lo siguiente:

- Recepción de muestras.
- Preparación y fijación de los extendidos.
- Coloración de los extendidos.
- Para microscopia y registro de resultados.

Esta distribución evita los movimientos cruzados y permite que el ambiente este despejado en la mitad del espacio. Otras necesidades importantes que debe satisfacerse son luz apropiada (natural o artificial), un grifo de agua corriente con salida de drenaje, buena ventilación y un lugar de almacenamiento para el equipo y materiales. Además, el ambiente para laboratorio deberá tener las siguientes condiciones mínimas:

- Una mesa de por lo menos 1.00 mts. x 0.60 mts. de material lavable, fácilmente desinfectable con soluciones germicidas, como Fenol al 5%.
- Un lavadero pequeño con su llave de agua y desagüe; sobre los bordes del lavadero se colocarán 2 varillas de vidrio unidos en sus extremos por un tubo de goma. Este lavamanos debe estar cerca a la mesa y será dedicado a la coloración de extendidos.
- Microscopio monocular o binocular, con objetivo de inmersión.
- Caja para láminas portaobjetos.

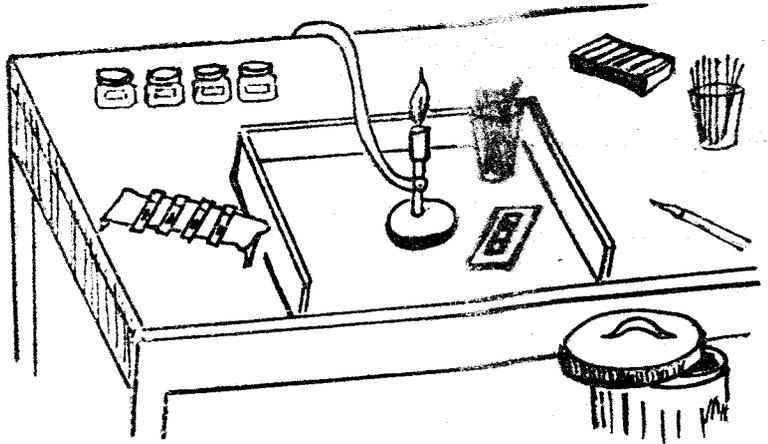
- Recipiente con los aplicadores o palitos de madera.
- Mechero.
- Lápiz para marcar vidrio. (graso o diamante)
- Papel lente.
- Soporte de varillas de vidrio.
- Tres frascos tipo cuentagotas para los colorantes y decolorantes; de preferencia 2 juegos.
- Papel carbón usado (opcional).
- Papel de filtro.
- Un recipiente de latón con tapa para incineración del material contaminado.
- Aceite de inmersión.
- Tolueno o bencina.
- Reactivos: fucsina básica, azul de metileno, fenol en cristales, ácido clorhídrico, alcohol de 95° o comercial y agua destilada.
- Libro de Registro.

PREPARACION DEL EXTENDIDO

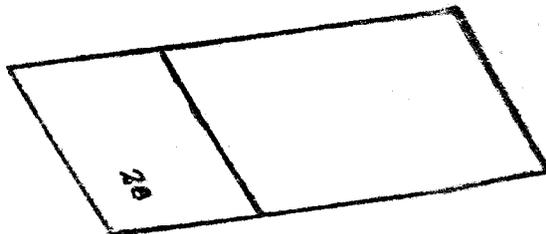
Antes de empezar el trabajo, el personal encargado debe lavarse las manos y ponerse un guardapolvo de protección lo más largo posible. Luego cerciorarse que no le falte ningún reactivo ni material. Todas las fases de preparación del extendido deben ser completamente sistematizadas así como la conservación del orden de las muestras. Procesar las muestras por series, cada serie de muestras no debe ser mayor de 12. Al hacer el extendido cuidar que las láminas sean nuevas y desengrasadas en alcohol; en lo posible no reutilizar las láminas negativas. Las etapas de la preparación del extendido son las siguientes:

- Colocar sobre la mesa de trabajo una toja doble de papel periódico o una bandeja metálica de 80x50 cm. con papel periódico, humedecido con fenol al 5%.
- Colocar en muestras de espato previamente

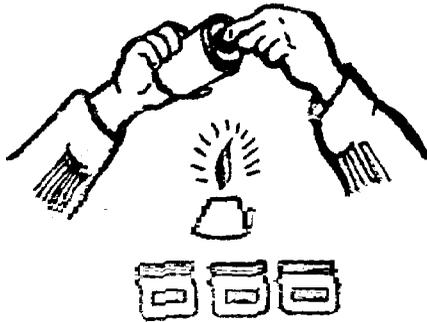
rotulado sobre la mesa de trabajo de la misma forma colocar las láminas portaobjetos sobre soporte de madera, en orden consecutivo.



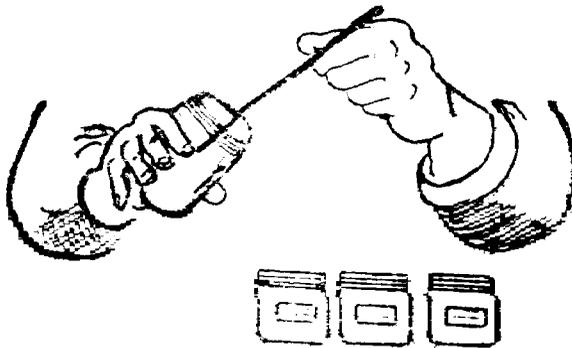
- Numerar las láminas portaobjetos con un lápiz grasoso trazando una línea en cada una, que divida la superficie en una tercera parte destinada a la numeración y dos terceras partes para hacer el extendido, se hará en la cara inferior de la lámina para evitar que se borre al ejecutar la coloración.



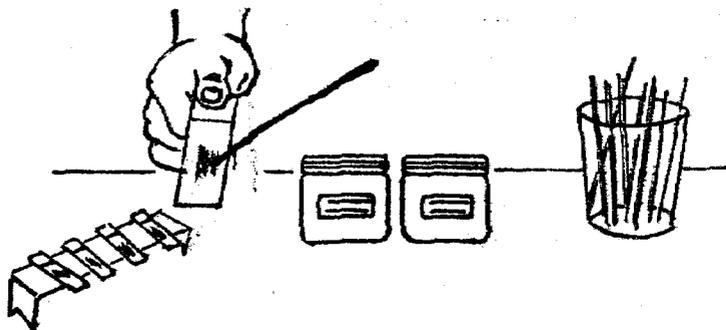
Destapar cuidadosamente el envase de la muestra que se va a procesar colocándola cerca al mechero.



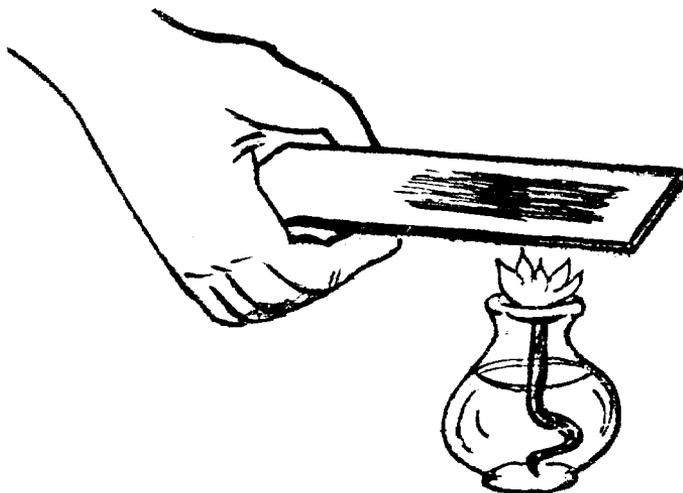
Dividir un aplicador de madera (bajalengua) en dos o tres partes y tomar entre el pulgar y el índice de la mano, para luego seleccionar la partícula útil que es la porción mucopurulenta de color amarillo verdoso, enrollándola en el aplicador.



- Colocar la partícula útil sobre el portabjeto y extender, haciendo movimientos de vaivén, hasta lograr que el extendido sea homogéneo (ni muy fino ni muy grueso), que no llegue a los bordes de la lámina a fin de que al manipular no se contamine el operador. Por ningún motivo debe calentarse la lámina mientras se haga el extendido, debido a que por el calor se forman círculos concéntricos y precipitados granulosos.
- Pasar por la llama del mechero los bordes de la lámina extendida, colocar sobre el soporte de madera y dejar secar a temperatura ambiente.
- Terminado el extendido, descartar los aplicadores en el receptáculo de incineración, cerrar el envase y proseguir en igual forma para las demás muestras.



- Fijar cada lámina, una vez seca, mediante dos o tres pasajes rápidos sobre la llama del mechero con el extendido hacia arriba.

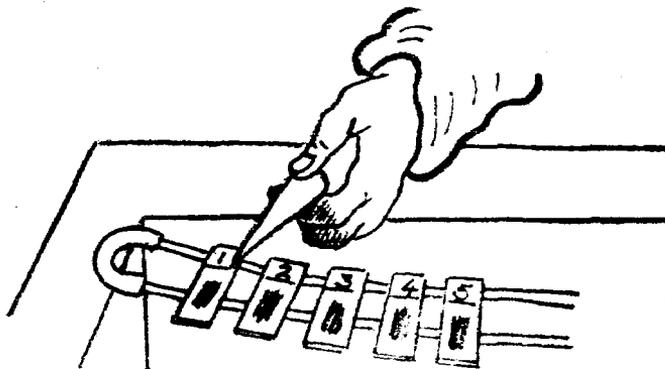


COLORACION

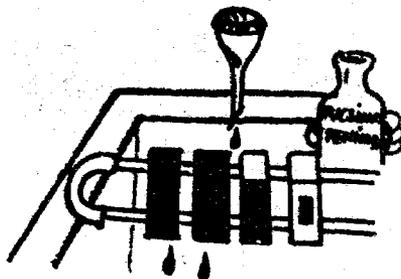
La técnica más apropiada a las condiciones del personal y equipo es de Ziehl Neelsen, cuyos pasos son:

Primer Paso: COLORACION DE BACILOS

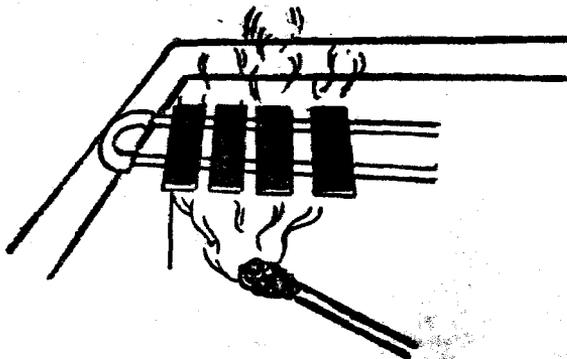
- Colocar sobre el soporte de coloración (alambre o varilla de vidrio) la serie de láminas fijadas con el extendido hacia arriba, el número hacia el operador y la varilla más próxima al operador ligeramente más alta que la otra.



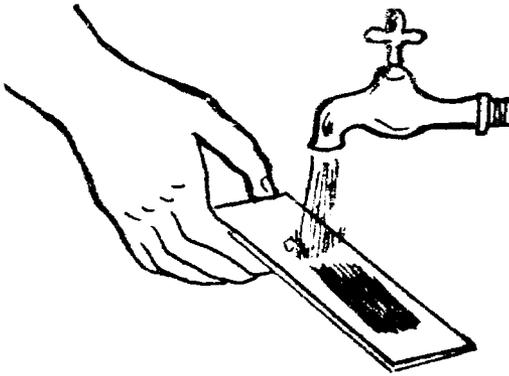
- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con el colorante fucsina básica fenicada, previamente filtrada.



- Calentar suavemente con la llama del mechero de alcohol o un hisopo de algodón humedecido en alcohol hasta la emisión de vapores, repetir el proceso por 3 veces, no debe hervir la preparación. Si el volumen del colorante disminuye por evaporación, debe agregarse más hasta cubrir totalmente el extendido, dejar enfriar.
El tiempo mínimo de coloración con fucsina es de 5 minutos.

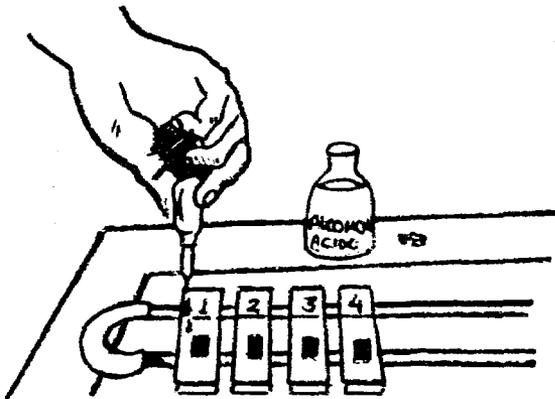


- Eliminar la fucsina tomando la lámina por el extremo numerado, entre el pulgar y el índice de la mano o con una pinza, inclinándola hacia adelante y dejando caer agua corriente a baja presión sobre la parte que no contenga el extendido.

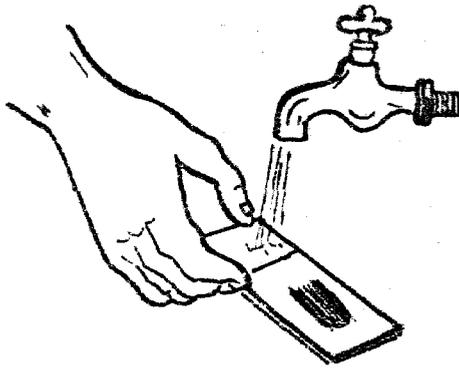


Segundo Paso: DECOLORACION

- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la solución de alcohol ácido durante dos minutos hasta obtener una coloración clara o rosa pálido, de ser necesario decolorar nuevamente, efectuando movimientos en vaivén de la lámina.

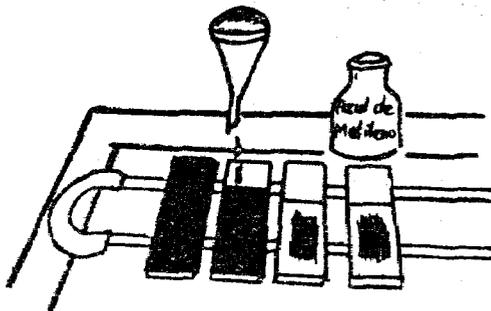


- Una vez eliminado el alcohol ácido lavar nuevamente la lámina con agua a baja presión, cuidando de no desprender la película.

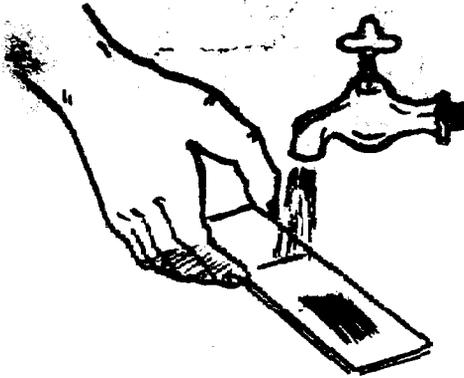


Tercer Paso: COLORACION DE FONDO

- Cubrir la superficie del extendido con el colorante azul de metileno, previamente filtrado, durante 30 segundos a un minuto.

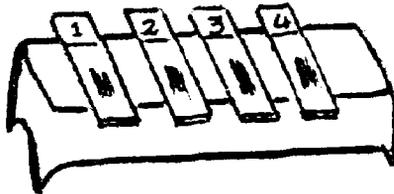


Eliminar el azul de metileno y lavar cada lámina con agua a baja presión, tanto la cara que tiene el extendido, como la cara inferior.



Colocar las láminas coloreadas en orden numérico sobre el soporte de madera y dejar secar al medio ambiente.

Aclarar la numeración antes de su observación al microscopio.

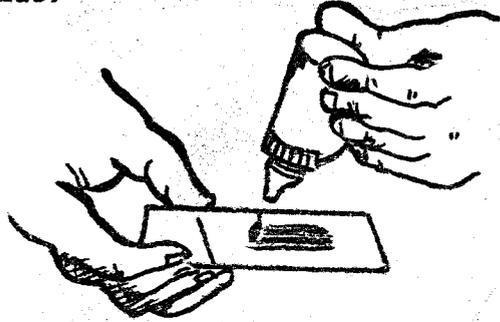


OBSERVACION MICROSCOPICA

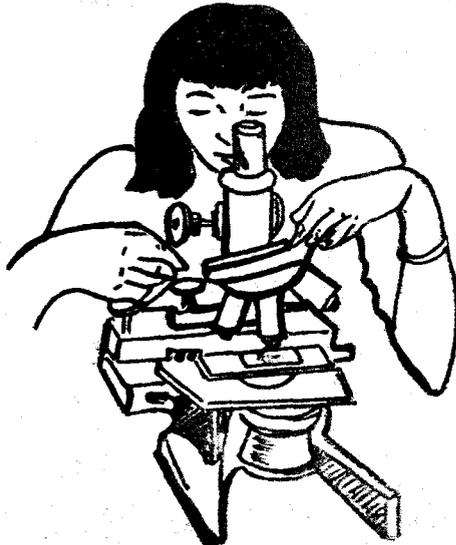
La observación microscópica, debe cumplir dos objetivos importantes:

1. Determinar si en el extendido hay Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR).
2. Establecer su número aproximado.

- Para iniciar la observación se debe emplear un microscopio que este en buenas condiciones, con el objetivo de inmersión (100x) y un ocular de 7, 8 a 10x. Antes de usar el objetivo de 100x, se debe colocar una gota de aceite de inmersión sobre el extendido.

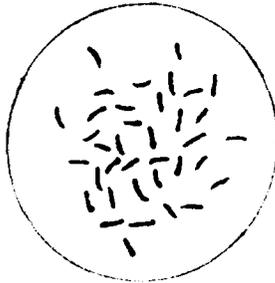


- Cada campo microscópico, se debe observar en superficie y en profundidad, para lo cual se utilizará permanentemente el tornillo micrométrico.

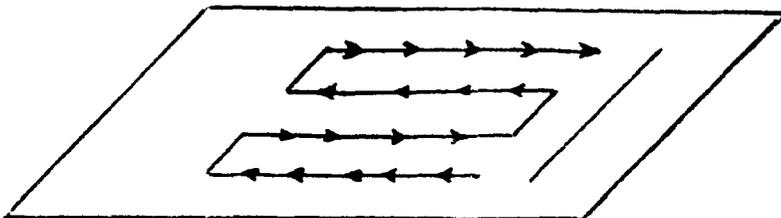


METODO DE LECTURA

- Los bacilos aparecerán como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, teñidos de rojo, generalmente con gránulos más coloreados en su interior, aislados, en parejas o en grupos sobre un fondo azul claro.



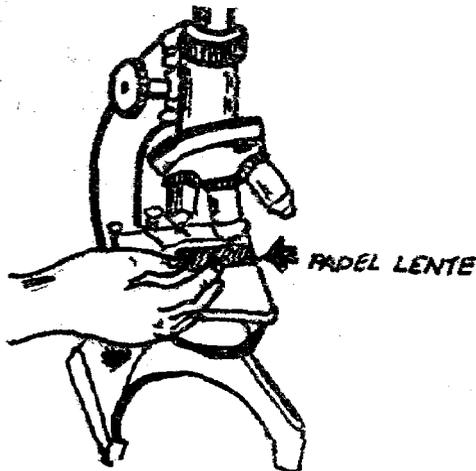
- Es aconsejable seguir una pauta uniforme de observación, leyendo de izquierda a derecha del extendido un mínimo de 100 campos útiles, equivalentes a 5 minutos. Se considera campo microscópico útil aquel en el cual se observa elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas).



Los campos en que no aparezcan dichos elementos no deben contabilizarse en la lectura.

- El observador irá tomando nota del número de bacilos observados y que el número de campos variará según la cantidad de bacilos que contenga la muestra.

Al término de la lectura retirar la lámina de la platina del microscopio, limpiar el aceite de inmersión con tolueno y guardar la lámina. Limpiar con papel lente humedecido con tolueno el exceso de aceite del objetivo de inmersión del microscopio.



INFORME DE RESULTADOS.- Se recomienda la siguiente escala semicuantitativa:

- (-) No se encuentran BAAR en 100 campos microscópicos observados.
- (+) Menos de un BAAR por campo en 100 campos observados (de 10-99 BAAR)
- (++) Uno a 10 BAAR por campo, en 50 campos observados.
- (+++) Más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

BAAR: Bacilo Acido Alcohol Resistente

Si en un extendido se encuentra de 1 a 9 bacilos en 100 campos observados, observar 100 campos más. Si persistiese el resultado, realizar otro extendido de la misma muestra e informar lo encontrado y solicitar nueva muestra.

ELIMINACION DE LOS MATERIALES CONTAMINADOS

- Los materiales contaminados (envases de esputo, aplicadores, papeles del área de trabajo, etc.) se deben recoger y colocar en recipientes metálicos para su incineración, ebullición, esterilización en autoclave o descartar bajo tierra.
- Limpiar con eficiencia toda la superficie de la mesa de trabajo con solución desinfectante, dejándola secar con las ventanas abiertas.

7. REUTILIZACION DE LAS LAMINAS USADAS

Las láminas con resultados negativos se hierven durante media hora en solución de detergente, lavar con agua corriente, luego enjuagar con agua destilada, secar con una toalla limpia y seleccionar las láminas que no tienen rayaduras. Posteriormente sumergir en alcohol y secar con una toalla limpia.

8. REGISTRO DIARIO DE BACILOSCOPIA

Los registros son medios prácticos para obtener información que ayudan en la vigilancia, supervisión y la evaluación del Programa. Además ofrece información necesaria para preparar informes mensuales y trimestrales sobre detección y control de casos. Una vez terminadas las lecturas, se debe hacer el registro diario de baciloscopia para efectos del Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Utilizar numeración correlativa anual (se empezará anualmente el 2 de Enero y se terminará el 31 de Diciembre del mismo año, desde el número 1 hasta el último correspondiente). El registro diario se lleva en un Libro y siempre lo hará el personal que realiza las baciloscopías. Cuando la muestra no sea esputo o cuando se quiera especificar el aspecto de la muestra, se hará en la columna correspondiente.

9. INFORME BACILOSCOPICO MENSUAL Y TRIMESTRAL

El consolidado mensual y trimestral debe llenarse en hoja AD-HOC conforme lo establece el Manual de Normas y Procedimientos del PNCT. Así por ejemplo en el ítem diagnóstico total, comprende el total de baciloscopías realizadas para el diagnóstico. En la columna de número de baciloscopia positivas, este comprende al número real de baciloscopías, considerando una baciloscopia positiva por paciente diagnosticado (Ejemplo: Si al paciente se le realizó 2 baciloscopías que fueron positivas, se deberá considerar sólo 1 en el informe).

CAPITULO III

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

Las medidas de Bioseguridad es el conjunto de prácticas de sentido común realizadas rutinariamente por un personal consciente y bien adiestrado, con el objeto de cuidar los riesgos de infección. Todas estas prácticas van dirigidas a:

Reducir la formación de aerosoles.

Destruir los bacilos presentes en los aerosoles producidos, ya que la transmisión de la tuberculosis ocurre por vía aérea, por inhalación de éstos, emanados durante la manipulación de muestras conteniendo bacilos.

OPERACIONES DE MAYOR RIESGO

Las manipulaciones que pueden ocasionar infección en el laboratorio están relacionadas con la formación de aerosoles:

- Destapar envases con muestras.
- Preparar el extendido.

CONDICIONES GENERALES EN EL LABORATORIO

El ambiente de trabajo debe ser amplio y ventilado. El espacio de la mesa del laboratorio donde se manipula el material infeccioso se denomina AREA CONTAMINADA, debe tomarse las siguientes precauciones:

- Debe estar ubicada en un punto alejado de la puerta de entrada al laboratorio y de los lugares en los que habitualmente se producen corrientes de aire.
- Se evitará la entrada de personas ajenas al servicio.

- Evitar el movimiento de las personas que trabajan en esa área mientras se realizan los extendidos.
- Se dispondrá en ella sólo de los equipos y materiales necesarios para el trabajo (cuadernos y libros de trabajo que deben estar allí y no se llevarán a otro sector). El teléfono no debe instalarse en el área de trabajo.
- Los pisos del laboratorio deben limpiarse todos los días con soluciones desinfectantes (pínicos, cresol, etc.) al final de la jornada de trabajo. No se debe barrer el piso en seco, ni encerar.
- El operador es el responsable de desinfectar el área contaminada antes y después de cada sesión de trabajo, con fenol al 5% o cresol al 3%, dejando actuar el desinfectante durante 30 minutos.

3. PRECAUCIONES EN EL TRABAJO

- Debe usarse una bata de trabajo, de mangas largas y preferentemente cerrada por delante. Las batas deben quedar en el laboratorio.
- Las manos deben lavarse con abundante agua y jabón cada vez que se interrumpa el trabajo, para secarse las manos deben usarse toallas.
- Es conveniente, aunque no indispensable, utilizar mascarillas descartables.
- Debe prohibirse comer, beber, fumar, peinarse, aplicarse cosméticos y mojar con la lengua las etiquetas en el laboratorio.

4. MEDIDAS EN CASO DE ACCIDENTES

En caso de accidentes por derrame de una muestra en el piso o la mesa, cubrir con papel periódico, empapar

éste cuidadosamente con fenol al 5% y dejar que actúe durante 30 minutos como mínimo antes de limpiar el área.

SUPERVISION SANITARIA

Todas las personas que trabajan en laboratorios de tuberculosis:

- Deben dar una reacción positiva al test de prueba tuberculínica intradérmica o PPD 2UT, o haberse vacunado con la BCG. Los que tengan reacción negativa, no deben prestar sus servicios hasta que hayan sido vacunados con BCG (lo cual no debe hacerse en el Laboratorio).
- Deben someterse a chequeo anual del tórax por rayos X y es preferible que se hagan un examen médico una vez al año.

CAPITULO IV

CUIDADO Y CONSERVACION DEL MICROSCOPIO

El microscopio es un instrumento de precisión, debe conservarse cuidadosamente tanto en su aspecto mecánico como en el aspecto óptico.

El microscopio sirve para trabajos que duran muchas horas no es conveniente adquirir instrumentos muy sofisticados, un modelo sencillo y óptimo es el más adecuado para un Laboratorio de diagnóstico bacteriológico.

Se deben elegir marcas que tengan distribución en el País, es decir las más comunes, y dentro de ellas la de precio más accesible.

CONSERVACION DEL MICROSCOPIO

Los objetivos de inmersión se deben limpiar siempre después de usar. En caso de quedar sucios con aceite este se puede secar sobre la lente ocasionando la inutilización de la misma.

Se debe preservar el equipo de la humedad y el polvo ambiental para evitar la formación de hongos y el atascamiento en los desplazamientos por acumulación de polvo y pelusas.

Para la limpieza diaria es conveniente disponer de:

- Trapo de lino fino
- Papel lente o bien papel absorbente tipo pañuelo descartable. También una piel de goma o trapo del tipo que no desprenda pelusa.
- Tolueno o Bencina para limpiar los objetivos.
- Pequeña pera de goma
- Pincel fino
- Una bolsa conteniendo no menos de 0.5 Kg. de silicagel.

OBJETIVO DE INMERSION:

Después de terminar la lectura de las láminas, se procederá la limpieza de las lentes, con papel lente o un trozo de gamuza que no desprenda pelusa, previamente humedecida con tolueno o bencina, nunca friccione el papel o gamuza sobre la lente.

Por ningún motivo el objetivo de inmersión quedará sin limpieza, porque esto ocasionaría que el aceite se seque y por ende la inutilización del objetivo.

OCULARES:

La superficie exterior es la que en general debe limpiarse. Tanto los párpados como las pestañas tienen grasa, al apoyarlos sobre los oculares las lentes pueden ensuciarse. En estos casos se debe limpiar con un trozo de gamuza seca. Ocasionalmente puede suceder que las lentes interiores estén sucias, en esos casos se desarmen las lentes interiores y se limpian con un pincel seco y aire soplado con la pera.

A N E X O 1

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

- 1.- Para preparar un litro de fucsina fenicada se necesitan 3 gr. de fucsina básica y 100 ml. de alcohol de 95°. Se disuelve por agitación y se agregan 55 ml. de fenol acuoso. Se agita y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Se deja reposar 24 horas y se filtra. (El fenol acuoso se prepara agregando a 100 gr. de fenol cristalizado, 10 ml. de agua destilada. Se calienta en baño maría hasta la completa disolución y se enfría. El fenol acuoso se mantiene líquido).
- 2.- Para preparar un litro de azul de metileno se emplea 1 gr. de azul de metileno y 100 ml. de alcohol de 95°. Se disuelve por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Se deja reposar 24 horas y se filtra antes de usar.
- 3.- Para preparar un litro de solución decolorante se requiere 30 ml. de ácido clorhídrico para análisis y 970 ml. de alcohol de 95°. Con la pipeta se deja escurrir el ácido clorhídrico por las paredes del matraz, que contiene el alcohol y se agita suavemente.

Cada vez que las soluciones colorantes sean trasvasadas a los pequeños cuentagotas que se emplean para la tinción, deben filtrarse; esto es especialmente necesario para la fucsina fenicada, porque con el tiempo se forman pequeños cristales que son causa de error al hacer la lectura de las láminas. Los frascos cuentagotas y sus tapas deben ser lavados con todo cuidado cada vez que se renueve su contenido.

Conservación: Los reactivos deben conservarse en frascos de color ámbar. Se recomienda preparar los colorantes en cantidades para un consumo no mayor de un mes.

A N E X O 2

SOLICITUD DE INVESTIGACION BACTERIOLOGICA PARA T.B.C.
(Baciloscopia - Cultivo)

(Escribir con letra de imprenta)

Región Y/O UDES: Establec. de Salud:

A. Paterno A. Materno Hombre Edad Sexo H.C. ó F.F.

Dirección Completa:

Solicitado por: Fecha:

Tipo de Muestra: Espudo, Otra, Especificar:

Para diagnóstico: En S.R. Rx. Anormal 1a M. 2a M.

Para Control: Mes de Tratamiento: 1 2 3 4 5 6

Resultado: Positivo: Negativo:

Observaciones:

.....

Laboratorio:

Nombre y Firma :

Fecha:

REGION Y/O UDES: ESTABLECIMIENTO DE SALUD:

| Nº de Orden | Fecha | Apellidos y Nombres | Edad | | N.C. ó F.F. | Procedencia | Tipo de Muestra | Sint. Resp. | | Rx. Anormal | | Control Trat. | | | Cultivos | |
|-------------|-------|---------------------|------|---|-------------|-------------|-----------------|-------------|----|-------------|----|-----------------------------|----|----|-----------|--|
| | | | F | M | | | | 1ª | 2ª | 1ª | 2ª | Mes de trat. 1-2-3-4-5-6 | BK | NO | Resultado | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |

REGISTRO DE MUESTRAS PARA INVESTIGACION BACTERIOLOGICA EN T.B.C.

A N E X O 3

A N E X O 4

SOLICITUD DE MUESTRA PARA CULTIVO Y SENSIBILIDAD

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE TUBERCULOSIS
(Ficha de Envío de Muestras)

I. ESTABLECIMIENTO DE SALUD:

Localidad:..... Provincia:.....

Región:.....

H.C. No.

Edad Sexo

II. DEL PACIENTE:

.....

| | | |
|------------------|------------------|---------|
| Apellido Paterno | Apellido Materno | Nombres |
|------------------|------------------|---------|

Dirección (Calle, No. Calle)

Ocupación:

Signos y síntomas:

.....

.....

III. ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO:

A) Virgen al Tratamiento: ()

B) Con antecedentes de tratamiento: ()

Drogas Administradas:

.....

Regular: [] Irregular: [] abandono: []

C) En Actual Tratamiento: () Tiempo:

Drogas Administradas:

Regular: [] Irregular: []

IV. TIPO DE MUESTRAS:

Examen Solicitado:

- Cultivo Diagnóstico:
- Cultivo Control:
- Sensibilidad:
- Tipificación:

FECHA DE ENVÍO:

Firma

A N E X O 5

INFORME BACILOSCOPICO MENSUAL

REGION Y/O UDES: Establec. de Salud: Fecha:

| TIPO DE BACILOSCOPIAS | Baciloc. Realizadas | | Casos Positivos | |
|-----------------------------|---------------------|-----------|-----------------|-----------|
| | MENSUAL | ACUMULADO | MENSUAL | ACUMULADO |
| TOTAL: | | | | |
| En Sintomático Respiratorio | | | | |
| En Rx. Anormal | | | | |
| En Loc. Extrapulmonar | | | | |
| Control de Tratamiento | | | | |

Persona Responsable:

Fecha:

A N E X O 6

CANTIDAD DE REACTIVOS Y CALCULO DEL MODULO INDIVIDUAL

| LAMINAS | | CANTIDAD (ml.) | | |
|----------------|----------|------------------|---------------|--|
| FUCSINA BASICA | | AZUL DE METILENO | ALCOHOL ACIDO | |
| 1 | 2 ml. | 3 ml. | 4 ml. | |
| 10 | 20 ml. | 30 ml. | 40 ml. | |
| 50 | 100 ml. | 150 ml. | 200 ml. | |
| 100 | 200 ml. | 300 ml. | 400 ml. | |
| 150 | 300 ml. | 450 ml. | 600 ml. | |
| 200 | 400 ml. | 600 ml. | 800 ml. | |
| 250 | 500 ml. | 750 ml. | 1000 ml. | |
| 300 | 600 ml. | 900 ml. | 1200 ml. | |
| 350 | 700 ml. | 1050 ml. | 1400 ml. | |
| 400 | 800 ml. | 1200 ml. | 1600 ml. | |
| 450 | 900 ml. | 1350 ml. | 1800 ml. | |
| 500 | 1000 ml. | 1500 ml. | 2000 ml. | |
| 550 | 1100 ml. | 1650 ml. | 2200 ml. | |
| 600 | 1200 ml. | 1800 ml. | 2400 ml. | |
| 650 | 1300 ml. | 1950 ml. | 2600 ml. | |
| 700 | 1400 ml. | 2100 ml. | 2800 ml. | |
| 750 | 1500 ml. | 2250 ml. | 3000 ml. | |
| 800 | 1600 ml. | 2400 ml. | 3200 ml. | |
| 850 | 1700 ml. | 2550 ml. | 3400 ml. | |
| 900 | 1800 ml. | 2700 ml. | 3600 ml. | |
| 950 | 1900 ml. | 2850 ml. | 3800 ml. | |
| 1000 | 2000 ml. | 3000 ml. | 4000 ml. | |

NECESIDADES DE LABORATORIO POR LAMINA

| | | |
|-----------------------|---|-----------|
| Fucsina | : | 0.006 gr. |
| Azul de metileno | : | 0.003 gr. |
| Aceite de cedro | : | 0.02 gr. |
| Acido clorhidrico | : | 0.12 gr. |
| Fenol | : | 0.1 gr. |
| Alcohol 95 grados | : | 4.38 gr. |
| Agua destilada | : | 4.4 gr. |
| Envases para esputo | : | 1 |
| Aplicadores de madera | : | 3 |
| Laminas | : | 1 |

NOTA: NO SE DEBE PREPARAR SOLUCIONES PARA MAS DE UNA LAMINA

A N E X O 7

MINISTERIO DE SALUD

PROGRAMACION POR NUCLEO INDIVIDUAL

PROGRAMA NACIONAL
DE CONTROL
DE TUBERCULOSIS
AÑO:

REGION: SUB REGION: UDES:
ESTABLECIMIENTO DE SALUD:
INSTITUCION: MINSA(), IPSS(), FF.AA.(), FF.PP.(), OTRO()
POBLACION SUJETO DE PROGRAMACION: P.S.P. REDONDEADO:

I. ATENDIDOS:

II. ATENCIONES:

III. INSTRUMENTOS:

| Enfermos con TBC(E) Prevalencia x 1000 | BACILOSCOPIAS | | Horas Baciloscopista (E) x 3 horas |
|---|-------------------------|--------------------|--|
| | Diagnóstico (E) x 15 | Control (E) x 3 | |
| | | | |

V. NECESIDADES DE LABORATORIO PARA BACILOSCOPIAS:

| Envases para Espuito (E) x 18 | Aplicadores de Madera (E) x 5 | Láminas Porta Objeto (E) x 10 | Aceite de Inmersión (E) x 0.36 cc. | Fucsina Básica (E) x 0.10 gr. |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| | | | | |

| Fenol Cristalizado (E) x 1.98 gr. | Alcohol 95° (E) x 78.84 cc. | Acido Clorhídrico (E) x 2.16 cc. | Azul de Metileno (E) x 0.05 gr. |
|--------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | | | |

PARAMETROS PARA LA ELABORACION DEL MODULO INDIVIDUAL

La Programación por Módulo Individual del P.U.I. debe realizarse todos los años en el mes de Julio, en la primera quincena e inmediatamente después remitir al nivel correspondiente para su consolidación.

I.- ATENDIDOS:

Enfermos con Tuberculosis (E), programar según la prevalencia local por 1000 habitantes y con el 100% de la población.

II.- ATENCIONES:

Baciloscopias de Diagnóstico, 15 por enfermo y 3 de control.

III.- INSTRUMENTOS:

Horas Baciloscopista. Rendimiento 5 baciloscopias por hora.

V.- NECESIDADES DE LABORATORIO PARA BACILOSCOPIAS:

- 1.- Envases para esputo, se requiere 18 por enfermo o 1.5 por S.R.
- 2.- Aplicadores de madera, en promedio 5 por enfermo.
- 3.- Láminas porta objeto: 10 láminas por enfermo, considerando que el 40% se rompen, rayan o son positivas.
- 4.- Aceite de inmersión, se requiere 0.36 cc. por enfermo o por 10 S.R.
- 5.- Fucsina básica, se requiere 0.10 gr. por enfermo o por 10 S.R.
- 6.- Fenol cristalizado: 1.98 gr. por enfermo o por cada 10 S.R.
- 7.- Alcohol de 95°, 78.84 cc. por enfermo o por cada 10 S.R.
- 8.- Acido Clorhídrico, 2.16 cc. por enfermo o por cada 10 S.R.
- 9.- Azul de Metileno 0.05 gr. por enfermo o por cada 10 S.R.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Kantor, I (1979). Bacteriología de la Tuberculosis. Oficina Sanitaria Panamericana. Serie de Monografías Científicas y Técnicas Nº 11; 63 pp.
2. CEPANZO (1984). Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para la Bacteriología de la Tuberculosis OPS/ONS. Nota Técnica Nº 26; 26 pp.
3. Ministerio de Salud del Perú, Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Doctrina, Normas y Procedimientos para el Control de la Tuberculosis en el Perú (1991).
4. Domínguez, L. (1983). Diagnóstico de la Tuberculosis por el examen microscópico del esputo. Bol. Inst. Nac. Salud 1(1):4-7.
5. CEPANZO (1988)^m. Bacteriología de la Tuberculosis. La muestra y el examen microscópico OPS/OMS. Nota Técnica Nº 26/REV. I.
6. Peluffo, G., Kantor, I. Viabilidad del M. tuberculosis y del M. bovis en extendidos por el calor. Revista ABA 1984, 48 (1-4).

DOCUMENTO ELABORADO POR:

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Jefe : Dr. Oscar Grados Bazalar
Director : Dr. José Aguilar Qlano

COMITE RESPONSABLE

Blgo. Luis Asencios Solís
Blgo. Neyda Quispe Torres
Dr. Hernán Sanabria Rojas

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE TUBERCULOSIS

Director : Dr. Pedro Guillermo Suárez Aguilar
Sub-Director: Dr. Jaime Portocarrero Céliz