

MANUAL PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS



PARTE I - BACILOSCOPIA

INSTITUTO NACIONAL DE
ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"DR. EMILIO CONI"

INSTITUTO NACIONAL DE
ENFERMEDADES INFECCIOSAS

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
LABORATORIOS E INSTITUTOS DE SALUD
"DR. CARLOS G. MALBRÁN"

MINISTERIO DE SALUD
PRESIDENCIA DE LA NACIÓN



MANUAL PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS

Preparado por:

- **María Delfina Sequeira** - INER “Dr. Emilio Coni”
- **Lucía Barrera** - INEI
- **María Susana Imaz** - INER “Dr. Emilio Coni”

Estas normas fueron revisadas y aprobadas técnicamente por:

- **Daniela Ballester** - Hospital Dr. Parmenio Piñero - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- **Marta Ambroggi** - Hospital Dr. Francisco J. Muñiz - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- **Marta Hoffman** - Hospital Dr. Enrique Tornú - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- **Nora Morcillo** - Hospital Dr. Antonio Centrángolo - Buenos Aires.
- **Sara Inés Contreras** - Redes de Laboratorio - Catamarca.
- **Cristina Cosiansi** - Hospital Tránsito C. de Allende - Córdoba.
- **Mirtha Teresita Pacce** - Laboratorio Central - Corrientes.
- **Marisa Gunia** - Laboratorio Central de Salud Pública - Chaco.
- **Eduardo Fernández** - Hospital Zona de Trellew - Chubut.
- **Alicia Sologuren** - Hospital San Martín - Entre Ríos.
- **Mónica Fantín de Colombo** - Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica - Formosa.
- **Ana Etchart** - Hospital San Roque - Jujuy.
- **Claudia Rechimont** - Laboratorio Central de Epidemiología - La Pampa.
- **Francisco Gómez** - Programa de Control de Tuberculosis - La Rioja.
- **Horacio Rousselle** - Hospital F.J. Lencinas - Mendoza.
- **Rossana Piloni** - Programa de Control de Tuberculosis - Misiones.
- **Graciela Torres** - Hospital B. Roldán - Neuquén.
- **Néstor Blázquez** - Hospital Zonal de Bariloche - Río Negro.
- **Mario Cisneros** - Programa de Control de Tuberculosis - Salta.
- **Virginia Carrió** - Hospital Dr. Marcial Quiroga - San Juan.
- **Leticia Pous** - Laboratorio de Salud Pública - San Luis.
- **Hortencia Cano** - Hospital Regional de Río Gallegos - Santa Cruz.
- **María Inés Gilli** - Laboratorio Central - Santa Fe.
- **Sandra Fajardo** - División Logística de la Municipalidad de Rosario - Santa Fe.
- **Horacio Heredia** - Programa de Control de Tuberculosis - Santiago del Estero.
- **Alejandra Guerra** - Hospital Regional de Río Grande - Tierra del Fuego.
- **Graciela Bichara** - Hospital Nicolás Avellaneda - Tucumán.

AUTORIDADES

Nacionales

Presidencia de la Nación

Presidenta: Dra. Cristina Fernández

Ministerio de Salud

Ministro: Dr. Juan Luis Manzur

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Secretario: Dr. Gabriel Yedlin

Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud

Dr. Carlos G. Malbrán (ANLIS)

Director: Dr. Jaime Lazovski

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

“Dr. Emilio Coni” (INER)

Directora: Dra. Elsa Virginia Zerbini

MANUAL PARA
EL DIAGNÓSTICO
BACTERIOLÓGICO
DE TUBERCULOSIS

PARTE I - BACILOSCOPIA

2012

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
LA MUESTRA	3
El Esputo	3
El envase	3
Número de muestras y momento de la recolección	3
Para diagnóstico	3
Para control de tratamiento	4
Para organizar la internación de los pacientes	4
Obtención espontánea del esputo	4
Calidad de la muestra	5
Métodos especiales para obtener muestras de esputo	5
Inducción de esputo	6
Lavado gástrico	6
Lavado bronquial	7
Otras Muestras	8
Orina	8
Líquido cefalorraquídeo	8
Líquidos pleural, ascítico, pericárdico, articular y otros	8
Biopsias y material resecado	9
Pus	9
Sangre	9
Recepción, Conservación y Transporte de las Muestras	10
Recepción en la sala de atención a pacientes	10
Conservación	11
Transporte	11
Recepción en el laboratorio que hace la baciloscopía	11
Encauzar para cultivo	12
LA BACILOSCOPIA	13
Lugar de Trabajo y Materiales	13
Preparación y Fijación del Extendido	15
Tinción	18
La técnica de Ziehl Neelsen	18
Coloración	18
Decoloración	19
Coloración de fondo	19
Tinción de Ziehl Neelsen	20

Observación Microscópica y Lectura de Extendidos	21
Características morfológicas del bacilo de la tuberculosis.....	21
Lectura de extendidos coloreados por Ziehl Neelsen	21
Procedimientos a seguir frente al hallazgo menos de 5 BAAR en 100 campos observados	24
Informe de los Resultados	24
Decontaminación y Desecho del Material	25
Derivación de Muestras para Cultivo	26
SISTEMA DE REGISTROS.....	29
CONTROL DE CALIDAD DE LAS BACILOSCOPIÁS	31
Control de Calidad Interno.....	31
Causas de error en la microscopía	32
Control de registro e indicadores de calidad de trabajo.....	34
Control de Calidad Externo	35
De láminas	35
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS.....	39
1. Normas Mínimas de Bioseguridad.....	39
Información y monitoreo medico del personal de laboratorio.....	39
Precauciones generales de trabajo.....	40
Precauciones en la toma y manipulación de las muestras.....	41
Manipulación y uso de desinfectantes.....	42
Manipulación de otras sustancias químicas	43
Procedimientos frente a un accidente de trabajo	43
2. Preparación de Reactivos	45
Para la técnica de Ziehl Neelsen.....	45
Precauciones con los colorantes.....	46
Cuidado y mantenimiento de la balanza	46
Cálculo de stock de reactivos.....	47
3. Microscopio.....	49
Componentes	49
Manejo.....	50
Cuidados	52
4. Modelos de Formularios	53
Solicitud de estudios bacteriológicos de tuberculosis	53
Registro de investigación bacteriológica de casos de tuberculosis.....	55
Control de calidad interno - Planilla de control de reactivos de coloración	57
Control de calidad interno - Planilla de monitoreo de resultados	59

INTRODUCCIÓN

Se estima que alrededor de un tercio de la población mundial, dos mil millones de personas, están infectadas con *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo causante de la tuberculosis; aproximadamente 8 millones de ellos enferman anualmente y cerca de un millón mueren por la enfermedad, aún cuando se cuenta con técnicas de diagnóstico sencillas y precisas y tratamientos eficaces.

La transmisión de los bacilos de la tuberculosis se produce casi exclusivamente por medio de núcleos suspendidos en pequeñas gotas que son expulsadas con la expectoración de las personas afectadas por tuberculosis pulmonar. Estas pequeñas gotas pueden permanecer infectantes en el aire durante bastante tiempo y pueden ser inhaladas por otras personas. La infección de los contactos es más probable cuando conviven o permanecen durante un tiempo prolongado cerca del enfermo que está expectorando bacilos y en un ambiente poco ventilado.

Cuanto mayor es el número de enfermos que están expectorando bacilos en la comunidad, mayor es la diseminación de la tuberculosis.

La identificación de los casos infecciosos es el principio de solución del problema de los enfermos y, fundamentalmente, de un problema de salud pública.

No todas las personas infectadas enferman, sólo una de cada diez aproximadamente, que son las más susceptibles. La tuberculosis puede manifestarse en cualquier órgano, porque el *M. tuberculosis* se disemina por todo el organismo; sin embargo, la enfermedad pulmonar es la más infectante y frecuente (80-85% de todos los casos diagnosticados) debido a que el bacilo necesita abundante oxígeno para desarrollarse. En los pulmones de los enfermos se pueden formar cavidades en las que se alojan grandes poblaciones de bacilos, que pueden ser detectados en muestras de esputos. Los **síntomas** más característicos de la tuberculosis pulmonar son la **tos y la expectoración que persisten por 2 semanas ó más. A las personas con estos síntomas se los llama Sintomáticos Respiratorios (SR)**. Otras manifestaciones pueden ser pérdida de peso, sudores nocturnos, cansancio físico y dolor de tórax.

El diagnóstico de certeza de tuberculosis puede hacerse en forma confiable en el laboratorio demostrando la presencia de bacilos en una muestra de la lesión por medio de la baciloscopía (examen microscópico) o el cultivo.

Para que la baciloscopía sea positiva es preciso que la muestra tenga como mínimo, entre 5.000 y 10.000 bacilos por mililitro de muestra. Este alto contenido de bacilos se encuentra en los pacientes con tuberculosis pulmonar, especialmente en aquellos cuya lesión es severa, con cavitación. Estos pacientes son los que transmiten mayoritariamente los bacilos manteniendo la enfermedad en la comunidad.

Los Programas Nacionales de Tuberculosis (PNT) tienen como objetivo principal cortar la cadena de transmisión, diagnosticando tempranamente los casos infectantes y tratándolos con esquemas eficaces que pueden lograr su curación. La estrategia recomendada internacionalmente para lograr este objetivo es la del tratamiento abreviado estrictamente supervisado, TAES o DOTS, según se utilice sus siglas en castellano o en inglés. Esta estrategia requiere el compromiso político para asegurar los recursos para controlar la tuberculosis, el acceso a la baciloscopía con calidad asegurada para la detección de casos y el control de la evolución de los pacientes, el acceso y disponibilidad ininterrumpidos de las drogas que integran los esquemas estandarizados de tratamiento para curar a los enfermos, y un sistema de registros que permita evaluar el resultado de los tratamientos y el desempeño del Programa de Control.

La baciloscopia es la técnica de elección para el diagnóstico rápido y el control del tratamiento de la tuberculosis pulmonar del adulto.

Es simple, económica y eficiente para detectar los casos infecciosos.

Por eso es la herramienta fundamental de un programa de control de la tuberculosis.

Para cumplir estos objetivos es necesario contar con suficientes laboratorios que aseguren a los enfermos un diagnóstico rápido, preciso y accesible. Los servicios de laboratorio son más eficientes y potentes cuando se integran a una **Red de Laboratorios de Tuberculosis** que debe involucrar a los laboratorios del sistema de salud pública de todas las jurisdicciones incluyendo a los que prestan servicios a prisiones, a los del sistema de seguro de salud, a los que se agregan laboratorios del sistema de salud privado y los de organizaciones no gubernamentales.

Todos los componentes de la red tienen responsabilidad y se complementan para asegurar el acceso al diagnóstico confiable por baciloscopia. Todas las unidades de salud deben recibir muestras de **los SR que deben ser investigados**. Los laboratorios de centros de atención primaria de la salud deben, además, realizar la baciloscopia e integrarse a los programas de garantía de calidad. Los laboratorios intermedios deben además entrenar al personal de los laboratorios de su jurisdicción y asegurar en ellos la calidad de la baciloscopia. Los laboratorios centrales o de referencia nacional deben ser capaces de realizar todas estas tareas y además organizar y asegurar el programa nacional de garantía de calidad en todo el país, monitorear la oferta y realización de baciloscopias, proveer herramientas para el entrenamiento del personal de laboratorio de todos los niveles, planificar y gestionar los insumos cuya adquisición centralizada sea conveniente. El resto de los componentes del PNTB debe sumarse utilizando adecuadamente la oferta de baciloscopias y los resultados producidos por la red de laboratorios.

Para que la baciloscopia sea una buena herramienta de control no es suficiente la calidad técnica. También es necesaria la calidad de los registros, de los informes del laboratorio y del análisis de la información que produce el laboratorio.

La estandarización de los procedimientos involucrados en la baciloscopia se basa en normas técnicas que son el producto de amplia experiencia mundial periódicamente revisada por organizaciones internacionales como la Organización Panamericana de la Salud (OPS)/Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER).

El primer Manual de Laboratorio utilizado en nuestro país fue una adaptación del Manual de Bacteriología de la Tuberculosis escrito por el Dr. Luis Herrera Malmsten, bacteriólogo chileno, a solicitud de la Organización Panamericana de la Salud en 1973. Esa adaptación fue utilizada durante más de una década en todos los laboratorios del país, hasta que un Comité Asesor de la OPS/OMS, convocado por el Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO), reunido en México en 1983, actualizó las normas a las nuevas necesidades de los países de América Latina; estas nuevas normas fueron adoptadas por la Comisión Argentina de Bacteriología de la Tuberculosis y fueron utilizadas hasta el año 2000 en el que se publicó una nueva edición del Manual de Normas de Microscopia, bajo la autoría de los Dres. Omar Latini, Lucía Barrera, María Delfina Sequeira y Elsa Zerbini.

Si bien los avances en la tecnología han impulsado innovaciones en la bacteriología, la baciloscopia no ha sido objeto de modificaciones técnicas sustanciales. Sin embargo, nuevas situaciones epidemiológicas, especialmente la incidencia de tuberculosis entre personas que viven con VIH y la necesidad de garantizar con mayor rigor la calidad de los resultados y la seguridad de las personas y el medio ambiente, han impulsado una nueva actualización de las normas en la presente edición.

LA MUESTRA

Para que el laboratorio pueda obtener resultados confiables no sólo es necesario que ejecute las técnicas en forma correcta. Necesita recibir una buena muestra, entendiéndose por tal la que proviene del sitio de la lesión que se investiga, obtenida en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado, bien identificada, conservada y transportada.

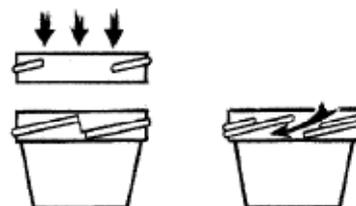
La muestra más examinada es el esputo debido a que, como se ha dicho, la tuberculosis pulmonar es la más frecuente. Sin embargo, dado que la enfermedad puede manifestarse en cualquier órgano, con menor frecuencia puede requerirse la investigación de muestras muy variadas: orina, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico, sangre, pus de cavidades abiertas, biopsias. Estas muestras de lesiones extrapulmonares deben procesarse también por cultivo.

EL ESPUTO

El envase

El envase más adecuado debe tener las siguientes características:

- **Boca ancha**, de no menos de 50 mm de diámetro.
- **Capacidad entre 30 y 50 ml**, para que el paciente pueda depositar la expectoración con facilidad dentro del envase, sin ensuciar sus manos o las paredes del frasco y para que en el laboratorio se pueda seleccionar y tomar la partícula más adecuada para realizar el extendido.
- **Cierre hermético**, con tapa a rosca, para evitar derrames durante el transporte y la producción de aerosoles cuando se abre en el laboratorio. Las tapas a presión generan mayor riesgo de formación de aerosoles y salpicaduras en el momento de ser retiradas.
- **Material plástico transparente, resistente a roturas**, para poder observar la calidad de la muestra cuando la entrega el SR, evitar roturas y derrames de material infeccioso y facilitar su eliminación. No se recomienda lavar y reutilizar frascos de vidrio, para evitar posibles errores originados en la transferencia de material de una muestra a otra y minimizar la manipulación de material potencialmente infeccioso.



Número de muestras y momento de la recolección

Para diagnóstico

Como la eliminación de los bacilos por el esputo no es constante, es conveniente analizar más de una muestra de cada SR para el diagnóstico de la tuberculosis. La primera muestra detecta aproximadamente el 80% de los casos positivos, la segunda agrega un 15% y la tercera un 5% más. Por cuestiones técnicas y operativas, las normas del PNCTB recomiendan la obtención de **dos muestras por SR**.

La **primera muestra** debe ser tomada **siempre** en el **momento de la consulta** (muestra inmediata), cuando el médico u otro personal del equipo de salud identifican al SR. La **segunda** la debe recolectar el paciente en su casa **por la mañana al despertar** (muestra matinal). La obtención de la muestra del momento de la consulta asegura que se pueda realizar al menos una baciloscopía del SR. Sin embargo, es más probable que se eliminen bacilos en las muestras matinales, por lo que deben hacerse los mayores esfuerzos para que la persona regrese con otra muestra.

Para control de tratamiento

El tratamiento de la tuberculosis comprende dos fases: la fase intensiva y la fase de continuación.

La disminución paulatina y sostenida en la escala de positividad hasta la negativización de la baciloscopía evidencia buena evolución del paciente.

Se debe recolectar por lo menos una muestra MATINAL al final de la fase intensiva. Si la baciloscopía continua positiva, esta muestra será enviada para cultivo, para el caso que se requiera para prueba de sensibilidad. Se debe tomar otra muestra al finalizar **el 4º mes para controlar la evolución del paciente y detectar un posible fracaso del tratamiento** y una al **finalizar el tratamiento para confirmar la curación.**

La detección del fracaso del tratamiento es más segura cuando se basa en reiterados resultados positivos de baciloscopías en sucesivas muestras del paciente. Algunos pacientes que inician su tratamiento con baciloscopía altamente positiva y están respondiendo bien al tratamiento pueden seguir presentando baciloscopía positiva al finalizar la fase intensiva aunque con menor grado de positividad. Es posible también que expectoren bacilos muertos que pueden ser vistos en el examen microscópico. El cultivo permite dilucidar si son bacilos vivos o no viables (no cultivables o muertos). Si la mayor parte de los bacilos vistos son no viables, el cultivo presentará escasas colonias o será negativo, a pesar de la baciloscopía positiva y esto coincidirá con una evolución clínica favorable.

Para organizar la internación de los pacientes

Para evitar la transmisión de tuberculosis intrahospitalaria el paciente bacilífero que, excepcionalmente requiera ser internado, deberá permanecer en aislamiento hasta que la baciloscopía de tres muestras de esputo tomada en días sucesivos dé negativa.

Se aconseja monitorear al paciente con baciloscopías de esputo semanales desde el momento en que la positividad es categorizada como una cruz, para detectar oportunamente la negativización y permitir que el aislamiento finalice lo antes posible. Si esto no fuera operativamente posible, como podría ser el caso de instituciones con alto número de internados, es conveniente seguir el esquema de evaluación mensual de tratamiento.

Obtención espontánea del esputo

El primer paso para asegurar la calidad de la baciloscopía consiste en explicar al SR, con mucha claridad, la importancia de examinar muestras de esputo, la necesidad de recolectar esputo y no saliva, cómo lograr una buena muestra, dónde colectarla y cómo manipularla hasta entregarla al servicio de salud.

Para la recolección de las muestras se deben tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Elegir un lugar bien ventilado y que ofrezca intimidad para que el SR produzca la expectoración. Puede ser una habitación bien ventilada y con acceso a luz natural (sol) o algún lugar abierto no concurrido del patio del Servicio de Salud. No utilizar lugares cerrados o muy concurridos tales como laboratorios, consultorios médicos, salas de espera o baños, porque éste es el proceso más riesgoso entre todos los necesarios para realizar la baciloscopía.
- Entregar al SR el envase de recolección ya rotulado con su nombre o número de identificación y, de ser posible, el servicio que solicita la baciloscopía. Estos datos **deben ser escritos en la pared del frasco** y no en la tapa para evitar errores, con rótulos que no se despeguen o con lápiz indeleble.
- Instruir al SR con lenguaje simple y comprensible para el paciente. Solicitar una buena muestra con la palabra que la identifica en cada lugar (gallo, pollo, gargajo). Solicitar al paciente que:
 - Inspire profundamente llenando sus pulmones de aire tanto como sea posible.
 - Retenga el aire un momento.
 - Expulse luego la expectoración con esfuerzo de tos, tratando de arrastrar las secreciones del pulmón.
 - Recoja el esputo producido dentro del envase tratando de que entre en su totalidad sin manchar sus manos o las paredes externas del frasco.
 - Repita el procedimiento otras dos veces, colocando todas las secreciones en el mismo frasco.
 - Limpie el exterior del envase con un pañuelo de papel y lávese las manos con agua y jabón.



Calidad de la muestra

La muestra de catarro mucopurulento proveniente de pulmón es la que asegura mayor probabilidad de que se puedan observar bacilos.

Una buena muestra tiene aproximadamente 3 a 5 ml, es generalmente espesa y mucoide. Puede ser fluida con partículas de material purulento. El color es variable (blanco, amarillento y hasta verdoso) A veces son sanguinolentas. Las secreciones nasales, faríngeas o la saliva no son buenas muestras para investigar tuberculosis, aunque es conveniente examinarlas de todas formas porque siempre existe la posibilidad de que los bacilos hayan quedado en la boca, nariz o faringe.

Métodos especiales para obtener muestras de esputo

Siempre se debe intentar conseguir expectoración espontánea porque produce la muestra con mayor riqueza en bacilos. Frente a determinados pacientes que no pueden expectorar, como en el caso de niños, enfermos psiquiátricos o ancianos, se puede recurrir a otras formas menos eficientes de obtención de la muestra tales como la inducción de esputo o el lavado gástrico. Estos procedimientos requieren equipos y medidas especiales de bioseguridad, y deben ser efectuadas por personal experimentado.

Inducción de esputo

Consiste en fluidificar las secreciones mediante nebulización con solución fisiológica y facilitar su drenaje. El procedimiento requiere de personal muy bien entrenado y, en caso de aplicar masaje y sondas, muy especializado. Implica riesgo elevado para el personal que asiste al paciente por lo que debe ser utilizado sólo cuando no queda otro recurso:

- Realizar el procedimiento en la sala de toma de muestras u otra con buena ventilación.
- Usar mascarillas de bioseguridad desechables (respiradores N95).
- Nebulizar durante 10 minutos con solución fisiológica, a temperatura apenas superior a la corporal.
- Para facilitar la expulsión de la expectoración, puede ser conveniente acostar al paciente boca abajo con la almohada debajo del tórax y la cabeza por fuera de la camilla y más baja, y si es posible, masajeando con técnicas fisioterapéuticas.
- Se puede repetir el proceso hasta tres veces.
- Recoger la primera expectoración producida.
- Entregar un segundo frasco para que la persona recoja las secreciones producidas en las 24 horas siguientes.
- Descartar las máscaras.
- Esterilizar el material empleado y luego lavarlo con detergente y abundante agua.
- Ventilar el ambiente inmediatamente después de la toma de cada muestra.

Cuando se trata de niños que no saben expectorar, luego de la nebulización y el masaje fisioterapéutico, se deben succionar las secreciones con un aspirador manual o mecánico. Para la operación manual pueden utilizarse aspiradores de secreciones, o colocarle al niño, sólo hasta la nasofaringe, una sonda nasogástrica K30 humedecida y conectada a una jeringa para aspirar con ella. Para la aspiración mecánica, se coloca la sonda nasogástrica K30 de la misma forma y se conecta a una tubuladura (del tipo de las utilizadas para perfundir soluciones) y se aspiran las secreciones con un aspirador eléctrico, con la mayor suavidad posible. Las secreciones quedarán retenidas en la ampolleta de la tubuladura.

El material recolectado debe ser examinado por baciloscopía y cultivo, aunque no sea mucoso.

Lavado gástrico

Se utiliza para detectar bacilos en el esputo ingerido mientras se encuentra en el estómago, especialmente en niños que no saben expectorar. La baciloscopía de lavado gástrico tiene valor relativo. Por un lado los pacientes infantiles presentan lesiones que contienen pocos bacilos y por lo tanto es poco probable detectarlos. Por otro, es posible que la muestra contenga micobacterias ambientales provenientes de alimentos o agua que pueden inducir a resultados falsos positivos. **Siempre se debe cultivar este tipo de muestras.**

La obtención de la muestra debe ser realizada por un médico o personal de enfermería experimentado. Para evitar demoras en el procesamiento, la toma de muestra debe ser programada en conjunto con el personal del laboratorio.

Se recomienda utilizar esta muestra sólo para diagnóstico y no en el control del tratamiento. Se deben respetar las siguientes recomendaciones:

- Número de muestras: al menos tres.
- Envase: el aconsejado para esputo.
- Momento de la recolección: por la mañana al despertar, en ayunas dado que la ingesta de alimentos hace que la expectoración ingerida pase al intestino. El ayuno no debe ser demasiado prolongado y no debe haber estímulo alimenticio que aumente la acidez gástrica (por ej. por presencia de la madre ante los lactantes).
- Técnica: Se introduce una sonda de longitud y diámetro adecuados a la edad del paciente hasta el estómago. Una vez que la sonda llega al estómago, se aspira con jeringa muy suavemente para que la succión no provoque daño. En caso de no obtenerse material, se inocula 10 a 15 ml de agua destilada o solución fisiológica estéril y se recoge el contenido gástrico inmediatamente en un frasco de tamaño adecuado.
- Conservación: El material debe ser enviado inmediatamente al laboratorio, ya que debe ser cultivado durante las 4 horas siguientes a su obtención. Si por alguna causa inevitable no es posible el procesamiento inmediato, debe neutralizarse el material agregando igual volumen de solución de bicarbonato de sodio al 8% y ser conservado en heladera por no más de 24 horas.
- Procesamiento: las muestras de lavado gástrico deben cultivarse. La baciloscopía se realiza con el sedimento de la muestra centrifugada previamente durante 15 minutos a 3.000g, por lo que es conveniente que sea hecha en el laboratorio que cultiva la muestra.

Lavado bronquial

Antes de tomar la muestra deben realizarse, de ser posible, baciloscopías de al menos dos muestras espontáneas de esputo para intentar detectar la enfermedad sin procedimientos invasivos y evitar los riesgos vinculados a este procedimiento.

La obtención de esta muestra está reservada a médicos especialistas. Se deben respetar las siguientes recomendaciones:

- Tomar la muestra en una sala bien ventilada y utilizando mascarillas de bioseguridad.
- Utilizar un fibrobroncoscopio esterilizado no más de 15 días antes.
- Entregar al paciente un frasco para que la recoja toda la expectoración que por estímulo de la fibrobroncoscopía puede producirse en las 24 horas siguientes.
- Esterilizar rigurosamente el fibrobroncoscopio con glutaraldehído al 2% activado con una sustancia bicarbonatada, según las indicaciones del proveedor.
- Lavar el fibrobroncoscopio enérgicamente para desprender bacilos que puedan haber quedado adheridos.

Si el fibrobroncoscopio no es debidamente esterilizado, puede ser vehículo de transmisión de tuberculosis. Si, además, no es apropiadamente lavado después de la esterilización, también puede originar falsos resultados positivos en las muestras que se tomen subsecuentemente, por la presencia de bacilos remanentes, vivos o muertos.

El lavado bronquioalveolar debe ser cultivado para asegurar el mejor rendimiento posible de esta muestra de difícil obtención y para confirmar la presencia de bacilos viables en el caso de tener un resultado positivo de la baciloscopía.

OTRAS MUESTRAS

Todas las muestras extrapulmonares deben ser procesadas necesariamente **por cultivo**: en algunos casos porque la escasa cantidad de bacilos de la tuberculosis presentes sólo podrá ser detectada por cultivo, en otros debido a que es probable que la patología esté causada por micobacterias ambientales o a la posibilidad de que la muestra contenga micobacterias saprófitas, como en el caso de la orina.

La baciloscopía de los líquidos con volumen mayor a 1 ml debe ser realizada luego de centrifugarlos 15 minutos a 3000g, y la de tejidos después de disgregar el material. Por esta razón es recomendable que la baciloscopía de estas muestras sea realizada en el mismo laboratorio que cultivará la muestra.

Orina

- Número de muestras: mínimo tres y máximo seis.
- Cantidad y momento de recolección: previa higiene externa con agua, el paciente debe recoger no menos de 50 ml de la primera micción de la mañana desechando la primera parte para disminuir la carga de gérmenes contaminantes.
- Envase: de 300-500 ml, limpio y de boca suficientemente ancha para posibilitar la recolección directa.
- Conservación: la muestra debe ser procesada inmediatamente porque el pH ácido afecta la viabilidad del bacilo. Si se debe transportar hasta otro laboratorio, se recomienda enviar el sedimento de toda la orina centrifugada durante 15 minutos a 3.000g, neutralizado con 1 mg de bicarbonato de sodio o fosfato trisódico anhidro y, si es necesario, conservado entre 4 y 9 °C por no más de 12 horas hasta el momento del envío.

Debe recordarse que la baciloscopía positiva del sedimento de orina no necesariamente es diagnóstico concluyente de tuberculosis, por cuanto existen micobacterias saprófitas en el tracto urinario que pueden producir resultados falsos positivos. El diagnóstico debe ser completado con cultivo e identificación del bacilo observado.

Líquido cefalorraquídeo

La obtención de este material está reservada a personal médico. Se debe tener en cuenta los siguientes detalles:

- Cantidad de muestras: todas las que el médico crea conveniente; cuanto mayor es la cantidad de muestras procesadas, mayor es la posibilidad de hallazgo de bacilos.
- Envase: estéril de 10-15 ml de capacidad y con tapa a rosca de cierre hermético.
- Uso de anticoagulante: no es necesario.
- Conservación: es conveniente procesar el material inmediatamente o conservado a 4°C por no más de 12 horas.

Líquidos pleural, ascítico, pericárdico, articular y otros

La obtención de estos materiales está reservada al personal médico. Se debe tener en cuenta los siguientes detalles:

- Número de muestras: todas las que el médico considere conveniente.
- Envase: estéril, de capacidad adecuada para la cantidad de la muestra.

- Uso de anticoagulante: puede agregarse tres gotas de citrato de sodio al 10% o EDTA (ácido etilén-diamino-tetraacético) por cada 10 ml de muestra.
- Conservación: enviar lo más rápido posible al laboratorio que realizará el cultivo, eventualmente conservar en refrigeración por no más de 12 horas.
- Toda vez que se tomen muestras de líquido pleural para investigación de adenosina deaminasa (ADA), se debe aprovechar la oportunidad de investigar por baciloscopia y cultivo el sedimento de la muestra.

Biopsias y material resecado

La obtención de estos materiales está reservada al personal médico.

En el caso de biopsia de endometrio, la muestra debe consistir preferentemente en raspado uterino tomado durante la primera fase del ciclo menstrual o en el período de ovulación.

- Envase: estéril
- Conservantes: uno o dos mililitros de solución fisiológica o agua destilada estéril para evitar la desecación. **No agregar formol** porque es letal para el bacilo; la porción de la muestra reservada para el estudio histopatológico debe ser separada para ser preservada en formol al 10%.
- Conservación: refrigerado, el material debe ser enviado inmediatamente al laboratorio que hará el cultivo o ser conservado refrigerado, y al abrigo de la luz hasta su envío.

Pus

- Envase: estéril Es preferible no usar hisopos para evitar la desecación. En caso de utilizarlos, antes de la toma de muestra deben ser humedecidos con solución fisiológica o agua destilada estéril.
- Conservación: en refrigerador. La muestra debe ser enviada inmediatamente al laboratorio que hace el cultivo o ser conservada refrigerada, y al abrigo de la luz hasta su envío.

Sangre

La investigación de sangre está indicada para pacientes con inmunosupresión severa, como en casos con infección por VIH con bajo recuento de linfocitos totales o CD4, y con baciloscopias de muestras respiratorias reiteradamente negativas. Se deben tener en cuenta los siguientes detalles:

- Cantidad y momento de recolección: dos muestras de 10 ml de sangre venosa en días consecutivos.
- Esterilidad y bioseguridad: utilizar guantes, desinfectar previamente la piel del área donde se efectuará la extracción con alcohol yodado.
- Anticoagulantes: utilizar jeringas con heparina.
- Envase: transferir la sangre a un tubo plástico seco estéril con tapa a rosca de cierre hermético.
- Conservación: Si no puede ser enviada la muestra inmediatamente al laboratorio que la procesará, colocar la sangre recién extraída en un frasco-ampolla conteniendo 50 ml de medio de cultivo para sangre (caldo cerebro-corazón (BHI) con anticoagulante). Incubar a 37°C hasta el momento del envío al laboratorio.

RECEPCIÓN, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Recepción en la sala de atención a pacientes

La recepción de los pacientes que entregan sus muestras debe ser organizada en un lugar de la unidad de salud que pueda ser ventilado o donde el aire sea renovado por algún sistema. Debe ser ágil de tal manera que el paciente no espere. Debe tenerse en cuenta que **la permanencia prolongada de pacientes que están expectorando bacilos en una sala de espera genera riesgo de transmisión de la tuberculosis en el centro de salud** a otros pacientes y al personal.

Para facilitar la identificación oportuna de los casos de tuberculosis las muestras de esputo producidas por los SR deben poder ser colectadas y entregadas en cualquier hora del día, en el momento más adecuado para el paciente mientras el centro de salud esté abierto.

El laboratorio debe recibir las muestras durante toda la jornada de atención a los pacientes. Luego puede regular el momento en que las procesa ya que el esputo puede conservarse unos días, sobre todo si sólo va a ser examinado por baciloscopía. Aún así, el examen debe ser realizado con la mayor premura posible, dentro de una rutina lógica de trabajo.

En el momento de recibir la muestra, se deben completar los siguientes procedimientos:

- Comprobar que los envases de las muestras estén claramente identificados en el recipiente y no en la tapa y cerrados herméticamente.
- Verificar que estén acompañados por el formulario de solicitud de baciloscopía.
- Observar la calidad de la muestra a través de las paredes del envase, sin abrirlo. Si se trata de **saliva o secreción nasal es conveniente recibirla** porque, aun cuando no sea una muestra de buena calidad, puede contener bacilos. Registrar que es saliva en el formulario. Insistir en las instrucciones indicando al paciente que recoja otra muestra.
- Ubicar los envases dentro de cajas de plástico con tapa que pueda ser decontaminadas con solución de hipoclorito de sodio.
- Si el paciente no obtuvo esputo y devuelve el envase, también ubicar el envase dentro de la caja para que luego sea desechado con el material contaminado como si hubiera sido usado.
- Después de recibida la muestra es necesario agilizar los procedimientos en todo lo posible. Cuanto antes se procese, mayor será la posibilidad de encontrar en ella *M. tuberculosis* por baciloscopía o cultivo. La temperatura ambiente y el transcurso del tiempo favorecen la multiplicación de los gérmenes habituales del árbol respiratorio y de la boca que desnaturalizan las proteínas del esputo, lo que dificultará la elección de la partícula útil y favorecerá la destrucción del bacilo. La multiplicación de la flora habitual o contaminante de la orina o contenido gástrico aumenta la posibilidad de que el cultivo resulte contaminado.



Conservación

Si las muestras de esputo no van a ser procesadas en el día, es aconsejable introducir cada envase en una bolsa de polietileno y anudar la bolsa encima de la tapa, de manera que quede sujeta firmemente. Las muestras deben ser conservadas en heladera, preferentemente dentro de la caja de plástico. Si no se cuenta con refrigerador, ubicar las muestras en un lugar fresco y protegidas de la luz.

Transporte

En un **Servicio de Salud que no tiene laboratorio**, el personal debe conocer **a qué laboratorio debe enviar las muestras, con qué frecuencia y por cuál medio de transporte**. Tanto para baciloscopía como para cultivo **se recomienda que se envíen por lo menos dos veces por semana**. De ser posible, se deben establecer los días de la semana en que se efectuarán regularmente los envíos, el medio de transporte y el horario de salida y de llegada. Si los envíos no se hacen regularmente, es conveniente que el laboratorio que va a recibir las muestras sea avisado previamente.

Se deben tener en cuenta las regulaciones vigentes en cada país para el transporte de muestras o su envío por vía postal. **Mínimamente** deben considerarse dos condiciones importantes:

- Protección del calor excesivo y de la luz solar.
- Eliminación del riesgo de derrame.

Se pueden utilizar para el transporte cajas rígidas, resistentes, impermeables, con cierre hermético y divisiones interiores. Son útiles las cajas de plástico con tapa de cierre hermético, del tipo de las que se utilizan en el hogar para conservar alimentos u otros enseres, de altura ligeramente superior a la de los envases de las muestras. Estas cajas, que hacen las veces de envase secundario, son fácilmente decontaminables por lavado con solución de hipoclorito de sodio. En el interior de las cajas se adapta una plancha en la que se cortan círculos de diámetro adecuado como para que encajen en ellos los envases de las muestras dentro de sus bolsas. Luego se rellenan los espacios entre los envases con papel absorbente o algodón que permite fijar los frascos y absorber la muestra en caso de fuga. Las cajas de plástico (envase secundario) se colocarán en otra con características similares pero sin divisiones y de tamaño ligeramente mayor, relleno los espacios vacíos para evitar movimientos.

Cada envío debe ser acompañado por las hojas de solicitud de examen correspondiente o al menos por una lista con los datos de los pacientes: nombre y apellido, servicio, aclaración sobre si es muestra para diagnóstico (1ª, 2ª u otra) o para control de tratamiento indicando el mes. Estos formularios deben estar en un sobre o bolsa de nylon, separado de los envases con muestras, fuera del envase secundario (dentro del terciario).

Se debe verificar que la dirección del laboratorio al cual se envía la caja sea la correcta, que el número de envases corresponda con el del listado, que la identificación de cada envase coincida con la del listado y que en el listado conste claramente la fecha de despacho y el nombre y dirección del centro de salud que lo envía.

Recepción en el laboratorio que hace la baciloscopía

El personal del laboratorio que recibe las muestras debe:

- Colocarse guantes desechables.
- Abrir la caja sobre la mesada dedicada exclusivamente para este fin.

- Inspeccionar las muestras controlando si se han producido derrames.
- Desinfectar el exterior de los envases con algodón con hipoclorito de sodio al 1% si se han producido pequeños derrames durante el transporte. Si el derrame ha sido masivo esterilizar toda la caja en autoclave.
- Comprobar que las muestras estén bien identificadas.
- Desinfectar la caja con hipoclorito de sodio al 1%.
- Notificar al servicio que derivó las muestras, en caso de ser necesario, los inconvenientes que se han observado, especialmente en la calidad y cantidad de los esputos y en la forma de envío.
- Si el laboratorio que recibe las muestras no realiza cultivo, deberá tener establecida la conexión con el laboratorio de referencia que sí lo realice, y organizado el transporte regular, idealmente dos veces por semana. Se deben establecer los días de la semana en los que se efectuarán regularmente los envíos, el medio de transporte y el horario de salida y de llegada. Si los envíos no se hacen regularmente, es conveniente que el laboratorio que va a recibir las muestras sea advertido previamente.

Encauzar para cultivo

- Las muestras recibidas para diagnóstico provenientes de pacientes con síntomas o signos de tuberculosis y alguna de las siguientes características:
 - Imagen radiológica compatible con tuberculosis pulmonar y baciloscopia negativa de dos muestras respiratorias.
 - Niños.
 - Localización extrapulmonar de la enfermedad.
 - Inmunocomprometidos, particularmente VIH positivos, diabéticos.
 - Antecedentes de tratamiento antituberculoso previo, especialmente si se registró abandono o fracaso.
 - Exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (contactos domiciliarios o cercanos de pacientes resistentes, trabajadores o internos de instituciones de salud o prisiones donde se registran casos con tuberculosis resistente a medicamentos).
 - Lavado gástrico, lavado bronquial o hisopados.
- Las muestras recibidas para control de tratamiento provenientes de:
 - Casos de tuberculosis con baciloscopia positiva en el control del segundo mes de quimioterapia o posteriormente.
 - Casos diagnosticados con baciloscopia negativa y que convierten a positiva su baciloscopia durante el tratamiento.

Como fue dicho, es conveniente que las baciloscopías de las muestras extrapulmonares y de lavados gástricos y bronquiales, sean realizadas en el laboratorio que va a realizar el cultivo.

La unidad de salud recibirá instrucciones especiales para derivar para cultivo las muestras necesarias en el caso en que se esté realizando un estudio para vigilar la resistencia a drogas antituberculosas.

LA BACILOSCOPIA

La técnica se basa en la **ácido-alcohol resistencia**, que es la propiedad que tienen las micobacterias de unir en su pared fucsina fenicada o auramina y retenerlas frente a la acción de decolorantes como la mezcla de ácido y alcohol. Esta propiedad se debe al alto contenido en lípidos, particularmente a los ácidos micólicos, que poseen en la pared celular. Así, utilizando una técnica adecuada es posible identificar al bacilo de la tuberculosis en la muestra del enfermo como un bastoncito rojo fucsia o fluorescente sobre una coloración de fondo que facilita su visualización.

Esta propiedad no es específica del bacilo de la tuberculosis, sino que la tienen todos los bacilos del género *Mycobacterium*, aun las micobacterias ambientales y otros pocos microorganismos.

De todas formas, en los países de alta endemia de tuberculosis, una baciloscopía positiva de una muestra respiratoria de un paciente inmunocompetente tiene muy alto valor predictivo para el diagnóstico de tuberculosis. Es decir, es muy bajo el riesgo de equivocarse al diagnosticar tuberculosis en esta circunstancia.

LUGAR DE TRABAJO Y MATERIALES

La baciloscopía puede ser realizada en laboratorios de cualquier complejidad, que posean un microscopio con lente de inmersión en buenas condiciones, algunos insumos de bajo costo e instalaciones simples en el laboratorio. Deben seguirse normas básicas sencillas que aseguren calidad y minimicen los riesgos.

Es recomendable que el área de trabajo sea exclusiva, pero esto no siempre es posible. Si se debe compartir un área del laboratorio, es necesario escoger un sitio exclusivo para la preparación de extendidos, preferentemente alejado de la entrada, para evitar corrientes de aire y movimiento de personal alrededor durante el procesamiento de las muestra. También es muy recomendable realizar los extendidos y coloraciones en un horario especial, en el momento de menor trabajo en el laboratorio.

Los requisitos mínimos del laboratorio son:

- Buena iluminación.
- Ventanas o extractor que permita renovar el aire del laboratorio. El equipo de extracción deberá contar con un caudal aproximado de 6 a 12 cambios del volumen del aire de la habitación por hora. Aunque la ventilación natural se considera aceptable, se prefiere la ventilación mecánica, ya que asegura la unidireccionalidad del flujo de aire. En todos los casos, se debe asegurar que la corriente del aire no esté dirigida a la mesada en la que se preparan los extendidos.
- Los equipos de aire acondicionado deben ser colocados correctamente considerando la dirección del flujo de aire, y siempre debe asegurarse que la corriente no esté dirigida a la mesada en la que se preparan los extendidos.
- Paredes y pisos lavables, que puedan ser desinfectados con solución de hipoclorito de sodio.

- Una mesa o mesada para colocar las muestras que se reciban y realizar los extendidos, con dimensiones mínimas de 1 x 0,50 m, en lo posible cubierta con material liso y resistente a soluciones germicidas. En caso de no contar con este tipo de mesada se puede utilizar bandejas o cubrir la mesa con un vidrio o papel.



- Un lavabo con alguna fuente y desagote de agua, en el que se pueda lavar las manos y realizar la tinción.



- Una repisa o armario para los reactivos, portaobjetos y demás materiales.
- Una mesa para el microscopio.
- Una mesa para escribir los informes y los registros del laboratorio.



- Un armario para almacenar los frotis.

El equipo mínimo necesario para realizar las baciloscopías está integrado por los siguientes elementos:

- Dos batas o guardapolvos de uso exclusivo para cada persona que realice baciloscopía.
- Microscopio con objetivo de inmersión en buenas condiciones, con una lámpara de repuesto.
- Envases para recolección de muestras.
- Aplicadores de madera o caña/bambú o asas preferentemente desechables o asas de alambre, generalmente de nicrón, de 0,6 mm de grosor. Para evitar vibraciones y pérdida del material en el momento de transferirlo, las asas no deben ser más largas que 15 cm, el aro debe estar completamente cerrado y no deben tener más que 5 mm de diámetro.
- Láminas portaobjetos nuevas, limpiadas con alcohol y secadas al aire.
- Frascos color ámbar para soluciones colorantes.
- Un soporte para sostener 12 láminas portaobjetos durante la preparación de extendidos.
- Varillas de vidrio u otro soporte inoxidable, de dimensiones adecuadas para sostener 12 láminas portaobjetos durante la tinción.
- Un mechero, preferentemente de gas aunque puede utilizarse uno de alcohol.

- Lápiz marcador de vidrio: graso, con tinta indeleble o de punta de diamante, de los que se utilizan para marcar cerámicas.
- Papel de filtro.
- Papel para limpieza de lentes, pueden ser pañuelos de papel desechables.
- Una pinza.
- Un hisopo.
- Un recipiente para descartar los envases con muestras, con tapa, de material resistente al autoclavado e inoxidable o que contenga una bolsa roja para residuos patológicos.
- Etanol al 70% o xilol.
- Aceite de inmersión: se recomienda no utilizar aceite de cedro, sino aceites a base de hidrocarburos sintéticos o de polímeros con índice de refracción de 1,5 debido a que no se secan, no se endurecen y no son disolventes de la fucsina.
- Soluciones antisépticas:
 - Fenol al 5%.
 - Hipoclorito de sodio al 1%.
 - Frasco con arena y fenol al 5% o con arena y alcohol, si trabaja con asa de metal.

Si el laboratorio recibe del Laboratorio de Referencia colorantes y reactivos fraccionados, listos para usar, no precisa equipamiento adicional.

Si recibe reactivos y colorantes en cantidades necesarias para preparar un volumen determinado, requiere recipientes de vidrio aforados para hacer la preparación.

Si en cambio, debe preparar reactivos y colorantes requiere:

- Una balanza.
- Material de vidrio aforado para preparar las soluciones.
- Un embudo.
- Sustancias químicas con calidad para análisis (Ver Anexo 2).

PREPARACIÓN Y FIJACIÓN DEL EXTENDIDO

Si se observan las medidas de bioseguridad recomendadas, el riesgo de adquirir la tuberculosis es mucho menor que el del personal de salud que está cerca de un enfermo que tose. La mejor medida para evitar riesgos y errores que pueden originar resultados falsos es la sistematización de las actividades siguiendo las siguientes indicaciones:

- Lavarse las manos.
- Colocarse la bata o guardapolvo.

- Ubicar en la mesada de superficie lisa, bandeja o papel embebido en hipoclorito de sodio al 1%, sólo lo necesario para realizar el extendido:
 - Mechero.
 - Aplicadores o asas.
 - Frasco con arena cubierta con fenol al 5% o alcohol hasta que sobrepase el nivel de la arena (necesario si utiliza asas no desechables).
 - Soporte para los extendidos.
 - Lápiz para marcar láminas portaobjetos.
 - Láminas portaobjetos nuevas, previamente sumergidas en alcohol y secadas al aire.
 - No más de 12 envases con las muestras.

- Ubicar al lado de la mesa el recipiente para descartar el material con tapa.

- Ordenar las muestras y numerarlas con el número correspondiente al del Registro.

- Marcar siempre en el mismo borde de cada lámina portaobjetos el número de identificación de cada muestra. Debe ser el mismo número asignado en el Registro del laboratorio, en el formulario de orden de examen y en las paredes del envase que contiene la muestra. Si se utiliza lápiz grueso, escribir el número en la cara inferior del portaobjetos para evitar que se borre durante la tinción. Durante esta etapa se debe tener cuidado de no tocar con los dedos la parte del portaobjetos destinada al extendido.



- Disponer las muestras a la izquierda del operador, o a la derecha, siempre en la misma posición, en orden creciente de numeración. Ubicar cada lámina marcada delante de la muestra que le corresponde.

- Usar una lámina para cada muestra. No colocar extendidos de más de una muestra en una lámina.

- Si las muestras estuvieron en movimiento, dejar reposar los envases durante 20 minutos antes de comenzar a abrirlos.

- Tomar la primera muestra y la lámina correspondiente y colocarlas detrás del mechero de manera que la llama quede entre el operador y el frasco. Esta posición protegerá al laboratorista de posibles formaciones de aerosoles al abrir el frasco.

- Destapar con cuidado el envase.



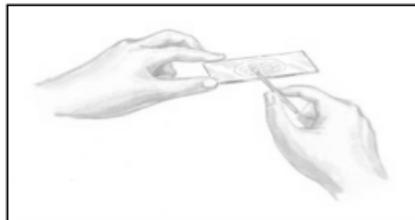
- Si se trabaja con un aplicador de madera, partirlo en dos tratando de que las puntas queden ásperas.

- Tomar cada parte del aplicador entre el pulgar y el índice de cada mano y con los extremos irregulares de cada **trozo seleccionar la partícula más densa o purulenta de la muestra de esputo** y enrollarla en una de los dos partes del aplicador con la ayuda de la otra. Si la muestra contiene varias porciones mucopurulentas tratar de mezclarlas con movimientos muy suaves del palillo y luego tomar una porción de la mezcla. Si sólo hay pequeñas partículas purulentas, escoger tres o más y mezclarlas en el mismo portaobjetos para homogeneizarlas. El mismo procedimiento puede ser realizado con el aro de un asa.



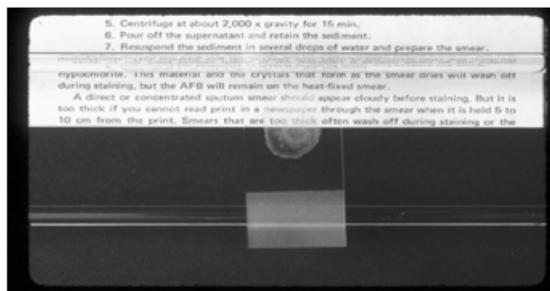
La selección de la partícula más purulenta de la muestra es uno de los pasos más importantes para aumentar la probabilidad de identificar los casos de tuberculosis mediante la baciloscopia directa de esputo.

- Colocar la(s) partícula(s) seleccionada(s) sobre el portaobjetos cerca de la línea divisoria virtual y extenderla con el palillo o el asa con movimientos circulares, tratando de dispersarla por toda la superficie central, sin llegar a los bordes (para evitar que el operador se contamine al manipularla), en forma homogénea. El extendido debe quedar de grosor homogéneo, cubriendo la mayor parte de los dos tercios del portaobjetos.



- Verificar que el extendido tenga grosor homogéneo y adecuado. Si es demasiado fino, es posible producir un resultado falso negativo. Si es muy grueso, el material puede desprenderse durante la coloración o puede resultar difícil la visualización de bacilos debajo de una capa gruesa de mucus.

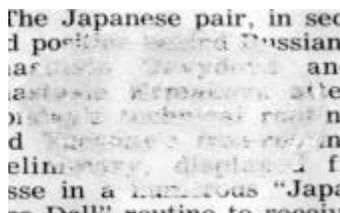
Se puede adquirir entrenamiento poniendo un papel impreso debajo del extendido. El grosor adecuado es el que permite **ver pero no leer** un texto impreso a través del preparado. Una vez adquirido el entrenamiento, es preferible no repetir rutinariamente este proceso para evitar tocar y transferir muestras con los papeles impresos.



Bueno



Demasiado Grueso



Bueno



Demasiado Fino

- Dejar el extendido en un soporte ubicado al costado de la mesada para que se seque a temperatura ambiente. **El extendido no debe ser calentado a la llama mientras esté húmedo** pues el calor fuerte altera la estructura de los bacilos y su posterior tinción; además puede generar aerosoles.

- Si se usó asa no desechable, introducirla en el frasco que contiene arena cubierta con fenol o alcohol, limpiarla con movimientos circulares por la arena y luego quemar todo el alambre hasta que se ponga rojo, con cuidado, comenzando por la parte más cercana al mango y avanzando luego lentamente hacia el aro para minimizar la formación de aerosoles. Se puede utilizar un incinerador de asas. No re-utilizar nuevamente el asa hasta que se haya enfriado.

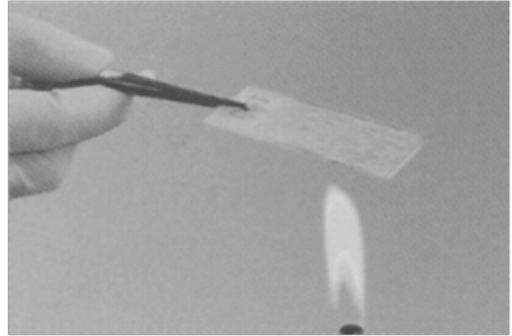


- Cerrar el envase de la muestra con la que se realizó el extendido y dejarlo en el lado opuesto al lugar donde están los frascos con las muestras que aún no se han procesado, para evitar confusiones.

- Continuar de la misma manera con cada una de las muestras siguientes.

- Conservar las muestras hasta terminar las lecturas de la baciloscopia y verificar que no es necesario realizar nuevos extendidos o enviarlas para cultivo.

- Limpiar la superficie de trabajo con una toalla de papel o algodón empapado en hipoclorito de sodio al 1% para desinfectarla.
- Esperar a que las láminas se hayan secado al aire.
- Tomar de a uno cada extendido con una pinza manteniendo la cara que contiene la muestra hacia arriba, y pasarlos rápidamente sobre la llama de un mechero tres o cuatro veces cuidando que no se caliente demasiado.
- Colocar cada lámina fijada en un soporte que puede ser el soporte que se va a utilizar para la coloración.



Los extendidos deben ser coloreados lo antes posible, no deben quedar sin colorear hasta el día siguiente, ya que algunos bacilos permanecen vivos después de fijados con calor hasta que incorporan la fucsina.

TINCIÓN

La técnica de Ziehl Neelsen

Coloración

- Disponer dos varillas de vidrio en forma paralela, a una distancia de aproximadamente 5 cm entre una y otra sobre un soporte dentro del lavabo/pileta de coloración.
- Filtrar la cantidad de fucsina necesaria para las tinciones a realizar en la jornada. Si el número de baciloscopías a colorear es pequeño, se puede filtrar la fucsina directamente cuando se la deposita sobre el extendido a través de un pequeño embudo con papel de filtro.
- Colocar sobre el soporte las láminas fijadas conservando el orden numérico con el extendido hacia arriba y manteniendo una separación de al menos 1 cm entre ellas.
- Cubrir totalmente la superficie del extendido con fucsina básica fenicada recientemente filtrada. Dispensar el colorante con suavidad, sin salpicar y sin tocar con el gotero o con el embudo los extendidos. También se puede cubrir previamente el extendido con un trozo de papel de filtro que no sobresalga del portaobjeto, y luego cubrir con fucsina. Esto evita que posibles cristales se asienten sobre el extendido.



- Con la llama de un hisopo embebido en alcohol calentar suavemente por debajo de los extendidos con movimientos de vaivén hasta que observe que se desprenden los primeros vapores blancos. No calentar con mechero.
- En caso de derrame del colorante, reponer la fucsina, no dejar secar el preparado.
- En el término de aproximadamente cinco minutos calentar tres veces hasta emisión de vapores; esto es suficiente para que la fucsina penetre adecuadamente en el bacilo y se fije a sus lípidos. **No hervir la fucsina porque la pared de los bacilos puede destruirse y colorearse mal.**
- Con una pinza, levantar cuidadosamente la lámina portaobjetos desde el extremo más cercano al operador. Enjuagar con abundante agua a baja presión proveniente de un frasco de agua o de un grifo, lavar muy suave y cuidadosamente la superficie eliminando totalmente la solución de fucsina. Girar el extendido y lavar con cuidado también la parte posterior.
- Inclinar el portaobjetos para eliminar el exceso de agua y evitar diluir los reactivos que se utilizarán a continuación.

Decoloración

- Cubrir la totalidad del extendido con solución decolorante y dejar actuar aproximadamente 3 minutos.
- Enjuagar con abundante agua a baja presión.
- Se considera decolorado cuando las partes más gruesas del extendido a lo sumo conservan un leve tinte rosado. Si se observan cúmulos rojos o coloración rosada intensa, volver a cubrir con solución decolorante, dejarla actuar entre uno y tres minutos y enjuagar nuevamente.
- Eliminar el exceso de agua inclinando el portaobjetos.

Coloración de fondo

- Cubrir todo el extendido con solución de azul de metileno.
- Dejar actuar durante un minuto.
- Enjuagar las láminas en ambas caras con agua a baja presión y limpiar la parte inferior con un algodón si ha quedado coloreada.
- A medida que se saquen del soporte de coloración observar si las láminas conservan la numeración clara y visible. Si no es así volver a numerarlas.
- Dejar secar las láminas a temperatura ambiente, apoyándolas en posición vertical en un soporte sobre un papel absorbente. No apoyar papel absorbente sobre el extendido.

Tinción de Ziehl Neelsen



Cubrir con fucsina filtrada



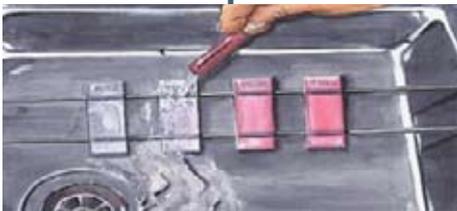
Calentar hasta emisión de vapores tres veces durante 5 minutos



Lavar con agua



Cubrir con decolorante durante 3 minutos (repetir este paso si es necesario)



Lavar con agua



Tinción de fondo con azul de metileno durante 1 minuto



Lavar con agua



Secar al aire

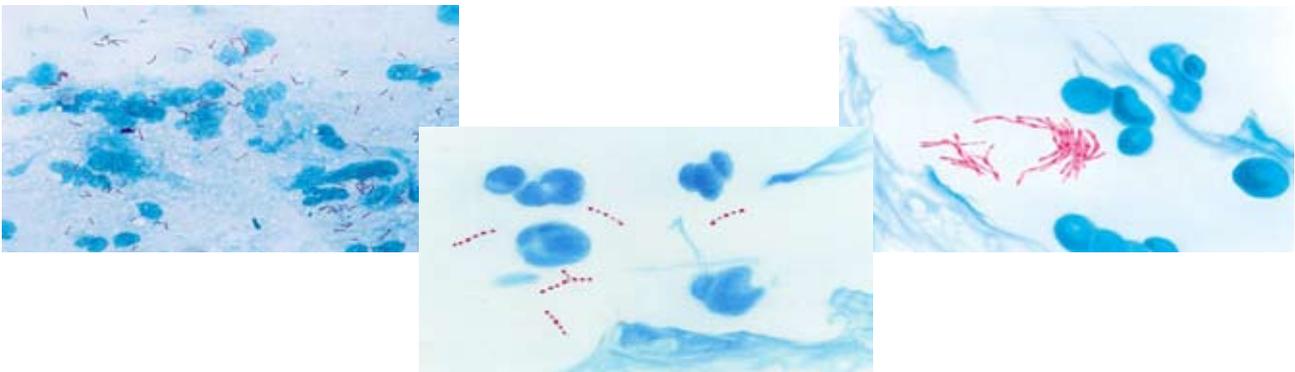
OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA Y LECTURA DE EXTENDIDOS

La observación microscópica debe cumplir principalmente dos objetivos:

- Determinar si en el extendido hay bacilos ácido-alcohol resistentes.
- Si los hay, cuantificar aproximadamente la riqueza en bacilos.

Características morfológicas del bacilo de la tuberculosis

Los bacilos acidorresistentes tienen entre 1 y 10 μm de largo. Con la coloración de Ziehl Neelsen se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia destacándose claramente contra el fondo azul. A veces se observan con gránulos o cuentas intensamente coloreados en el interior. En la muestra de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados.



Es muy difícil distinguir el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias por examen microscópico. Algunas micobacterias que no son *M. tuberculosis* pueden aparecer como bastones muy largos o como bacilococos.

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

De todas formas, es muy poco frecuente encontrar más de 10 microorganismos ácido-alcohol resistentes diferentes a *M. tuberculosis* en las muestras de esputo de los SR. Cuando el baciloscopista observa alguno que no tiene forma de bastón debe consultar al supervisor.

Lectura de extendidos coloreados por Ziehl Neelsen

Para la lectura, es necesario tomar en cuenta las siguientes indicaciones:

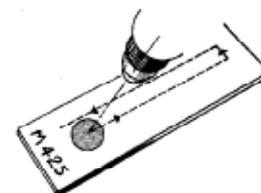
- Ubicar cerca del microscopio todos los elementos que se van a necesitar para la lectura:
 - Aceite de inmersión.
 - Pañuelos o trozos de papel suave.
 - El Registro del Laboratorio.
 - Una lapicera.
 - Una caja para guardar portaobjetos.
 - Un frasco con xilol o con etanol a 70%.

- Depositar una gota de aceite de inmersión en un extremo del frotis, sin tocar el preparado con el gotero.



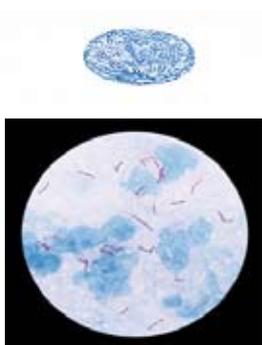
- Enfocar el extendido donde ha colocado la gota de aceite, con la lente 100x de inmersión (ver Anexo 3).
- Observar cada campo microscópico en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo.

- Seguir un recorrido en líneas rectas, sistemático para recorrer el extendido evitando repetir la lectura de algunos campos. Ejemplo: de izquierda a derecha.

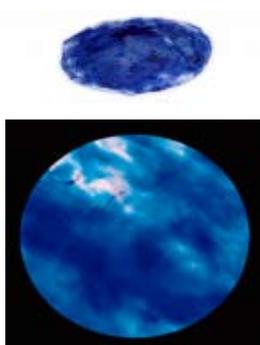


- Observar la calidad del extendido y de la coloración. Si no fuesen buenas, repetir nuevamente la baciloscopía de esa muestra.

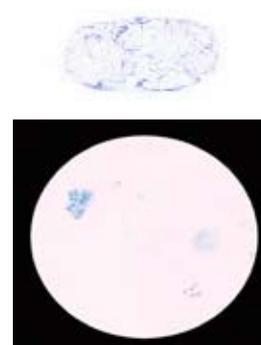
Bueno



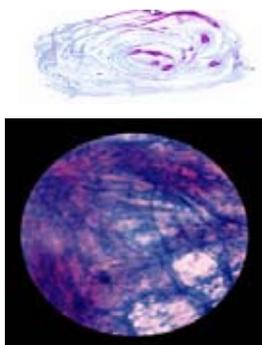
Grueso



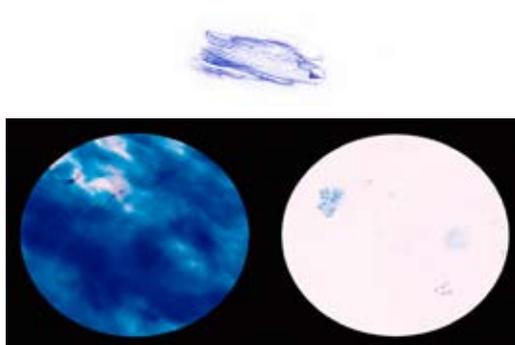
Fino



Mal Decolorado



No Homogéneo



Escaso Material



- Si se observan anomalías, identificar las causas:
 - Si observa BAAR que se mueven en forma anormal, pueden ser bacilos provenientes de otra baciloscopía que fueron arrastrados por el aceite de inmersión y es necesario reemplazarla y repetir la baciloscopía.
 - Si se observan cuerpos extraños (artefactos) que se mueven cuando se desplaza el portaobjetos, pueden ser restos de alimentos, precipitados o cristales. Si solo se mueven cuando se gira el ocular, se trata de suciedad que está en el ocular y hay que proceder a limpiarlo.
 - Si no se mueven, los artefactos pueden estar en los objetivos, el condensador, el espejo o la fuente de iluminación; proceder a limpiarlos.

- Contar el número de campos que ha leído y el número de BAAR que ha identificado. Se puede utilizar una cuadrícula de 10 cuadrados por 10 cuadrados, que representan los 100 campos microscópicos, como ayuda para registrar la cuenta. En cada cuadrado anotar el número de BAAR que se observa. Si no observa BAAR consignar 0.

0	0	1	0	4	0	0	0	2	5
7	3								

- El número de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en qué concentración:

Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
De 1 a 4 en todo el extendido	200

- Para calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, sume el total de BAAR que ha contado y divídalo por el número total de campos que ha observado. Cuando los bacilos se presentan agrupados, una estimación aproximada del número de bacilos presentes en el cúmulo es suficiente para calcular este promedio.
- Los campos leídos deben ser “campos microscópicos útiles”. Se considera campo microscópico útil a aquel en el cual se observan células bronquiales (leucocitos, células ciliadas) o fibras mucosas, que aparecen teñidos de azul. Los campos sin estos elementos no deben ser considerados para contar el total de campos observados, a menos que contengan BAAR.
- Un microscopista experimentado completa la lectura de 100 campos en aproximadamente cinco minutos.
- Al finalizar la lectura, girar el revolver de los objetivos, retirar el portaobjetos de la platina, comprobar el número de identificación y registrar el resultado.

- Antes de examinar el portaobjetos siguiente, limpiar suavemente la lente de inmersión con un trozo de pañuelo de papel absorbente. Esto evita la transferencia de material al siguiente frotis que se va a leer.



Procedimientos a seguir frente al hallazgo menos de 5 BAAR en 100 campos observados

Debido a la posibilidad de que se trate de artefactos de coloración, se recomienda:

- Ampliar la lectura a 200 campos.
- Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra, tratando de elegir partículas purulentas.
- Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado del anterior la muestra debe informarse como negativa, consignando en el Libro de Registro el hallazgo y en lo posible solicitar una segunda muestra.
- Cultivar o enviar esta/s muestra/s para cultivo.

INFORME DE LOS RESULTADOS

La siguiente escala semicuantitativa ha sido adoptada por el país:

Negativo (-): no se encuentran BAAR en los 100 campos observados.

Positivo (+): se observa en promedio menos de un bacilo por campo en 100 campos observados.

Positivo (++): de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados.

Positivo (+++): más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

El informe mediante la escala semicuantitativa estandarizada asegura la reproducibilidad de los resultados y permite evaluar la severidad de la enfermedad, el grado de infectividad del paciente y la evolución del paciente bajo tratamiento.

- Registrar inmediatamente el resultado de la lectura en el Registro del Laboratorio. Marcar los resultados positivos en rojo, para identificarlos rápidamente.
- Escribir el resultado en el formulario adoptado para el informe por el Programa de Control de Tuberculosis.
- Verificar que el informe contenga:
 - El nombre del paciente.
 - El número de identificación de la muestra.
 - El método de tinción utilizado.
 - El resultado del examen microscópico expresado según la escala estandarizada.
 - La fecha.
 - Toda observación que considere relevante, por ejemplo la calidad de la muestra inadecuada.
 - Firma del responsable del examen microscópico.

- **Enviar el resultado lo más pronto posible al centro de salud o al médico que solicitó el examen.** El tiempo que insume para enviar los resultados es indicador de la eficiencia de su laboratorio.

Toda demora en la entrega de un resultado positivo puede retrasar el inicio del tratamiento, prolongar el período durante el cual el paciente permanece infeccioso o determinar que se pierda un enfermo.

Es necesario el mayor esfuerzo posible para que los resultados de la baciloscopía sean recibidos por la unidad de salud dentro de las 24 horas de entregada la muestra al laboratorio.

DECONTAMINACIÓN Y DESECHO DEL MATERIAL

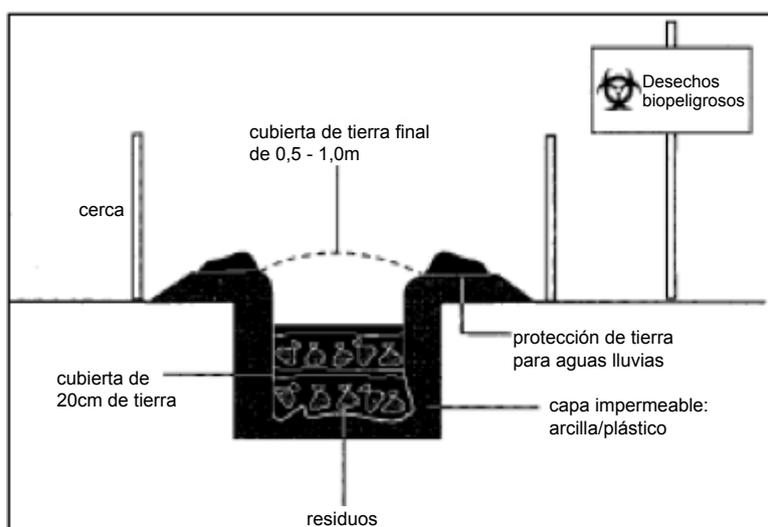
El principio que rige el manejo de los residuos de los laboratorios que realizan baciloscopias, es que todos los materiales potencialmente infecciosos deben ser preferentemente decontaminados dentro del servicio de laboratorio, ya que los mismos pueden ser peligrosos para aquellos que los transportan para su eliminación final.

En base a estos principios, los procedimientos recomendados para la decontaminación y desecho de material son:

- Desechar las muestras colocándolas en el recipiente de descarte dentro de una bolsa para residuos patológicos junto con los aplicadores y los papeles que eventualmente se hubieran utilizado en todas las etapas.
- Decontaminar el material contenido en este recipiente mediante su autoclavado (a 121°C durante 1 hora) o tratamiento en olla presión (1 hora) al final de cada jornada. Luego eliminarlos con los desechos patógenos habituales del laboratorio para que sean tratados por el servicio de recolección y tratamiento de residuos que se encarga de esta tarea en el servicio.
- Si el tratamiento anterior no fuera posible agregar 10 gotas de hipoclorito de sodio al 2% al remanente de las muestras no utilizado, dejar los envases tapados hasta el día siguiente, y eliminarlos luego con los desechos patógenos habituales del laboratorio para que sean tratados por el servicio de recolección de residuos que se encarga de esta tarea.
- Si el servicio de salud no contara con un sistema de recolección de residuos patológicos habilitado, el material previamente tratado por autoclave, olla presión o con hipoclorito de sodio al 2%, deberá ser enterrado en una fosa ubicada en un terreno no inundable situada en una zona donde no haya tránsito de personas, animales o vehículos. Deberá colocarse un cartel indicador con la Leyenda “Peligro - Confinamiento de Residuos” o “Desechos biopeligrosos”. El foso deberá:
 - Tener una distancia mínima entre el fondo y la capa freática no menor a 4 metros.
 - Con una profundidad aproximada de 2 m.
 - La parte inferior del foso debe estar cubierta por material impermeable de arcilla o plástico. La parte superior del foso se puede cubrir con losetas de hormigón.
 - El foso será utilizado hasta que los residuos alcancen una altura de llenado de 0,60 metros, medidos desde el plano superior; sobre ellos se esparcirá una capa de cal y el resto será rellenado con tierra únicamente, previo retiro de las losetas.

La cobertura superior quedará sobre elevada y con una pendiente que permita el escurrimiento del agua pluvial, colocándose previamente a ella una capa de material impermeable a nivel de suelo.

Es probable que existan disposiciones especiales para el enterramiento controlado en las diferentes jurisdicciones. Se recomienda consultar al organismo correspondiente sobre la legislación vigente en cada una de ellas.



DERIVACIÓN DE MUESTRAS PARA CULTIVO

El cultivo incrementa la posibilidad de detectar el bacilo de la tuberculosis en las muestras de casos que normalmente están afectados por un bajo número de bacilos, como los niños o pacientes con tuberculosis extrapulmonar.

Además, permite diferenciar el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias en muestras donde es probable encontrar ambos, como en orina, contenido gástrico, las de pacientes que viven con VIH.

Por último, permite conocer la sensibilidad de bacilos a drogas antituberculosas e identificar los casos que pueden no responder al esquema de tratamiento de primera línea. Esto puede ocurrir entre pacientes tratados en forma irregular o con dosis insuficientes y entre sus contactos.

El laboratorio debe encauzar la investigación por cultivo en los siguientes casos aun cuando no exista solicitud de cultivo por parte del médico.

Muestra	Examinada para	y tomada de un paciente	Encaminar la muestra para
- Esputo.	Diagnóstico	Con síntomas respiratorios persistentes y dos o más muestras anteriores con baciloscopia negativa.	Cultivo e Identificación
- Extrapulmonar. - Lavado bronquial. - Contenido gástrico. Baciloscopia negativa o positiva	Diagnóstico	Cualquiera.	
- Cualquiera. Baciloscopia negativa o positiva	Diagnóstico	Niño.	Cultivo, Identificación y Prueba de sensibilidad
- Cualquiera. Baciloscopia negativa o positiva	Diagnóstico	Inmunocomprometidos, especialmente VIH positivos o diabéticos.	
		Con antecedente de tratamiento para tuberculosis previo.	
		Contacto domiciliario o cercano de paciente resistente.	
- Cualquiera. Baciloscopia positiva	Diagnóstico	- Adictos al alcohol u otras drogas. (*) - Residencia anterior en países con alto nivel de resistencia a drogas (Ecuador, Perú, algunos países asiáticos y de Europa del Este). (*)	
		- Que finalizó dos o más meses de tratamiento. - Que convirtió su baciloscopia de negativa a positiva.	
- Esputo. Baciloscopia positiva	Control de tratamiento		

(*) *Ante la persistencia de signos y síntomas respiratorios sospechosos de TB y dos o más muestras con baciloscopia negativa, derivar muestras para cultivo y si éstas resultaran positivas, encauzar para prueba de sensibilidad.*

Para producir resultados precisos, oportunos y evitar la formación de aerosoles y transferencia de material entre muestras distintas, verifique si ha incorporado los siguientes hábitos de rutina:

- ✓ Verificar la exactitud y claridad de la identificación de cada muestra en el envase, lámina, registro e informe de resultado.
- ✓ No trabajar con más de 12 muestras en cada serie.
- ✓ Mantener el orden, ubicando cada lámina numerada delante de la muestra correspondiente, en orden ascendente de izquierda a derecha.
- ✓ Procesar las muestras de a una, no abrir el siguiente envase antes de cerrar el anterior.
- ✓ Maniobrar con suavidad el envase de las muestras.
- ✓ No introducir en el envase de una muestra aplicadores, asas sin esterilizar o utensilios utilizado con otra muestra.
- ✓ Utilizar láminas nuevas, sin marcas y libres de grasitud.
- ✓ Seleccionar la partícula mucopurulenta.
- ✓ Extender homogéneamente suficiente cantidad de la partícula útil, sin exceso, sobre el portaobjetos.
- ✓ Mantener los extendidos separados unos de otros en todo momento.
- ✓ No tocar los frotis con las manos, goteros, varillas o grifos.
- ✓ Evitar salpicaduras con las soluciones o el agua.
- ✓ Filtrar la fucsina fenicada en el momento de uso, dejarla actuar 5 minutos calentando 3 veces hasta desprender vapores, sin hervir.
- ✓ Eliminar el agua remanente de lavados.
- ✓ Descartar y volver a preparar frotis que por accidente se hayan superpuesto o resulten mal coloreados.
- ✓ Limpiar la lente del microscopio luego de leer cada lámina.
- ✓ Dedicar no menos de 5 minutos a la lectura de cada preparado.
- ✓ Ser preciso al cuantificar bacilos en el extendido utilizando la escala estandarizada.
- ✓ Evitar toda demora que pueda ser eliminada.
- ✓ Encaminar para cultivo las muestras de los casos que lo requieren.

SISTEMA DE REGISTROS

El registro del laboratorio no sólo sirve para documentar los resultados del examen microscópico de las muestras. También aporta información que, integrada a la producida por otros laboratorios, es útil para evaluar la situación epidemiológica y la calidad de las actividades destinadas al control de la tuberculosis y para planificar dichas actividades. Además permite conocer y monitorear el grado de desarrollo, utilización y eficiencia de la Red de Laboratorios.

El laboratorio debe poder rastrear en sus registros las muestras recibidas, procesadas y derivadas para cultivo y prueba de sensibilidad, SR investigados, casos diagnosticados y controlados, el resultado de las baciloscopías de cada paciente, reactivos e insumos recibidos y consumidos, lotes de colorantes, decolorantes, soluciones antisépticas preparadas y consumidas, resultados de controles de calidad interno.

Los laboratorios de la Red deben contar con los siguientes instrumentos estandarizados por el PNT: Formulario de Solicitud de Bacteriología y Registro de Muestras para Investigación Bacteriológica de la Tuberculosis. En el Anexo 4 se presentan modelos de estos instrumentos, de los registros de preparación/control de calidad de colorantes y de controles de calidad.

Los registros deben ser conservados al menos durante 2 años.

La precisión en la documentación es crítica para rastrear resultados, evaluar y planificar apropiadamente las actividades.

Los instrumentos de registro deben seguir las normas del Programa de Control de Tuberculosis.

Deben estar completos y contener información confiable y consistente.

CONTROL DE CALIDAD DE LAS BACILOSCOPIÁS

El control de calidad permite evaluar si la información producida por el laboratorio es precisa, reproducible y oportuna.

Instaura un sistema de alarmas que permite prevenir, descubrir y corregir errores.

Resulta en mayor eficacia para detectar y asistir a los casos de tuberculosis y para controlar la patología.

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

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Es responsabilidad de cada laboratorio que realiza baciloscopias. En particular, el responsable del laboratorio debe establecer en la rutina de trabajo un sistema de controles regulares y continuos de los puntos críticos.

El control de calidad interno comprende:

- La evaluación de:
 - Materiales, equipos, reactivos.
 - El desempeño del personal.
 - Los procedimientos.
 - La exactitud y precisión de los informes.
 - La oferta y aplicación adecuada de la baciloscopía.
 - El rendimiento de la baciloscopía para detectar casos.
- El monitoreo de los resultados de los controles.
- Las medidas correctivas a aplicar cuando la imprecisión del resultado excede los límites considerados aceptables o se producen demoras evitables.

Para el control de calidad de colorantes y del microscopio se realizan los siguientes procedimientos.

- Preparar extendidos con muestras positivas y negativas tratadas previamente con 10 gotas de fenol 5% para que puedan ser utilizados durante dos meses, siguiendo los siguientes procedimientos:

Preparación de los controles positivos

- Utilizar esputos con baja positividad (1+).
- Dejar estos esputos por uno o más días a temperatura ambiente, para que el esputo se licue.
- Agregar 5 a 10 gotas de fenol al 5% y dejar durante 1 hora.
- Realizar los extendidos y fijar algunos para evaluar el grado de positividad de la muestra empleada.
- Chequear el número promedio de BAAR coloreando unos pocos extendidos (por ej. 6) seleccionados al azar de todo el lote.
- Fijar todos los extendidos positivos preparados.

Preparación de los controles negativos

- Asegurarse que el esputo usado para preparar extendidos negativos ha sido examinado rigurosamente para certificar que no hay BAAR.
 - Agregar el fenol, dejar una hora y luego preparar tantos extendidos como sea posible.
 - Fijar los extendidos negativos.
-
- Si no se reciben suficientes muestras positivas como para preparar los controles positivos, solicitar los extendidos al laboratorio de referencia. Guardarlos en cajas diseñadas para guardar extendidos o dentro de una caja envueltas en papel suave, bien acondicionados, en lugar seco.
 - Controlar la calidad de cada nuevo lote de colorantes tiñendo una lámina negativa y otra positiva. Registrar el resultado de este control en el libro de preparación/control de reactivos.
 - Comprobar que los BAAR se vean completa e intensamente coloreados con fucsina y que la coloración de fondo sea uniforme, del color esperado y que ofrezca buen contraste. Verificar si la cuantificación de los bacilos coincide con la inicialmente asignada a la muestra con la que se prepararon los extendidos positivos.
 - Si el resultado no fuera satisfactorio para el teñido de BAAR, repetir nuevamente la coloración empleando otros controles, para asegurarse que el error no estuvo en la técnica de coloración. Si en este segundo control, la coloración fuera defectuosa o el número de BAAR observado fuera inferior al esperado, desechar la fucsina y/o alguno de los otros reactivos. Registrar el lote que resultó anómalo y descartar las soluciones insatisfactorias.
 - Es conveniente repetir el control arriba descrito al menos una vez cada dos semanas y registrar estos resultados en el libro de registro de investigación bacteriológica.

Control de registro e indicadores de calidad de trabajo

- Disponer que una persona no involucrada en la realización e informe de la baciloscopia verifique un día por semana al azar que los datos y resultados consignados en los informes elaborados ese día coincidan exactamente con los registrados en el Libro del Laboratorio. Esto debe ser realizado por el responsable del laboratorio en el caso en que él mismo no procese e informe muestras.
- Verificar que las muestras estén siendo procesadas en el día en que fueron recibidas o al día siguiente. Si el laboratorio no puede hacer baciloscopías todos los días, o si recibe muestras de centros periféricos, verificar que no transcurran más de 3 días desde que las muestras fueron tomadas hasta que son procesadas.
- Controlar que los resultados de las baciloscopías se estén entregando regularmente 24 horas o a lo sumo 48 horas después de procesada la muestra.
- Verificar que los resultados sean recibidos, en el servicio en el que el paciente entregó su muestra o en el consultorio del médico que solicitó el estudio en el menor tiempo posible por más alejado que esté.
- Verificar que hayan sido derivadas para cultivo o cultivadas las muestras que requieren ser cultivadas según lo detallado en el punto Derivación de muestras para cultivo.
- Realizar un análisis mensual y mantener un registro de los siguientes indicadores:
 - Número de SR examinados.
 - Número de baciloscopías realizadas.
 - Número de baciloscopías realizadas para diagnóstico/número de SR investigados.
 - Porcentaje de casos diagnosticados por baciloscopía entre los SR.
 - Número de baciloscopías de control realizadas.

Estos indicadores también pueden ser calculados a partir de la información que debe ser ingresada en el Sistema de Vigilancia Laboratorial (SIVILA) que es parte del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS).

Si los valores de estos indicadores se alejan bruscamente de los habitualmente encontrados, se deben investigar las causas.

- Una sucesión de resultados positivos en uno o unos pocos días de trabajo. Si se detectan, investigar si no se ha producido contaminación cruzada de bacilos, desde una muestra altamente positiva a las siguientes.
 - El porcentaje de pacientes con resultados positivos en la primera muestra investigadas para diagnóstico que tiene una segunda muestra también positiva. Debe ser al menos 85-90%.
 - La proporción de muestras deficientes entre las de diagnóstico. No debe superar el 20%.
- Consultar al laboratorio de referencia si se detectan anormalidades y no se pueden identificar las causas.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

De láminas

Es responsabilidad del laboratorio de referencia. Requiere que **todas las láminas** de las baciloscopías efectuadas en los laboratorios locales sean conservadas al menos un mes porque pueden ser solicitadas por el laboratorio de referencia para su relectura.

Para conservarlas es necesario seguir las siguientes indicaciones:

- Quitar el aceite de las láminas leídas presionando suavemente sobre ellas un papel absorbente.
- Colocarlas en el soporte de coloraciones y cubrirlas o sumergirlas en un recipiente para lavado de láminas portaobjetos, con xilol durante no más de 30 segundos.
- Volcar el xilol y dejar secar al aire.
- Comprobar que la numeración esté visible en las láminas.
- Guardarlas en cajas de láminas portaobjetos o dentro de una caja común envueltas individualmente en papel, en paquetes que agrupen las de un día o una semana, con un rótulo en el que figure la fecha de realización. No poner sobre este rótulo los resultados de cada una.
- Conservarlas en lugar seco y fresco.
- Descartarlas después de un mes si no han sido solicitadas por el laboratorio de referencia.



Eventualmente, se puede recibir del laboratorio de referencia un panel de láminas para colorear, leer e informar. Este panel debe ser introducido en el procedimiento de rutina, sin realizar procedimientos especiales para este control.

Mantener en un archivo los resultados de los controles de calidad externo. Analizar cada resultado e implementar medidas correctivas, si fueran necesarias, siguiendo las recomendaciones del laboratorio de referencia.

Normalmente son requeridos los registros de laboratorio y los resultados de control de calidad interno y externo durante la visita de supervisión. Deben estar disponibles.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Acosta Reyes I, Reyes L, Rodríguez A. Marcelino B, Diclo J, Cabada RE, Heredia J, Tejada D. Red Nacional de Laboratorios del Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Manual de Normas Para el Uso de la Bacteriología en Tuberculosis. República Dominicana. 2004.
- 2) Aziz MA, Ba F, Becx-Bleumink M, Bretzel G, Humes R, Iademarco MF, Sang Jae Kim, Lamothe F, Paramasivan CN, Ridderhof J, Sloutsky A, Van Deum A, Shah KV, Weyer K. External Quality Assessment for AFB Smear Microscopy. WHO, APHL, CDC, IUATLD, KNCV, RIT. Washington DC, 2002.
- 3) Barrera L, Sequeira MD. Manual de diagnóstico bacteriológico. Parte II. Cultivo. Manual y guía técnica. Buenos Aires. 2007.
- 4) Birkin N, Espinal M, Granch R, Jarvis W, Kumaresan J, Rieder H, Simone P. Normas para la prevención de la Tuberculosis en los establecimientos de asistencia sanitaria en condiciones de recursos limitados. WHO/CDS/TB/99269. 2002.
- 5) Blancarte L, de Kantor, I, Latini O, Laszlo A, Valenzuela P, Yáñez A. INPPAZ. Bacteriología de la tuberculosis. La muestra. El examen microscópico. Nota Técnica N°26 / Rev1. OPS/OMS. Martínez (Buenos Aires, Argentina), 1988.
- 6) Camacho Prado M, Limache Ormachea G, Valdez Taboada D. Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis de Bolivia. Manual de Laboratorio. La Paz, 2000.
- 7) Collins CH, Grange JM, Yates MD. Tuberculosis Bacteriology. Organization and Practice. 2nd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997.
- 8) De Kantor IN, Kim SJ, Frieden T, Laszlo A, Luelmo F, Norval PY, Rieder HL, Valenzuela P, Weyer K. Los servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis. II Microscopía. WHO Global Programme. WHO/TB/98.258. Geneve, 1998.
- 9) De Kantor IN, Kim SJ, Frieden T, Laszlo A, Luelmo F, Norval PY, Rieder HL, Valenzuela P, Weyer K. Los servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis. I Organización y Gestión. WHO Global Programme. WHO/TB/98.258. Geneve, 1998.
- 10) Del Granado M, Cruz R, Camacho M. Gil E. Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Bolivia. Manual de Normas Técnicas. La Paz, 1999.
- 11) Flor Freire L, Kuffó Mendoza D, Vasconz Carrizares M, Cobo León J, Brito Páez G, Luna Echeverría G. Normas Técnicas del Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Ecuador. Quito 2002.
- 12) Fujiki A. TB microscopy. Tokio, Japan: The research Institute of Tuberculosis, Japan Antituberculosis Association, Japan International Corporation Agency, Hachioji International Training Centre, 1998.
- 13) Garzón MC, Naranjo ON, Sierra CR, Llerena C, Orjuela DL. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Bacteriología del Mycobacterium tuberculosis y de otras Micobacterias no Tuberculosas. Manual de Procedimientos. Bogotá. 2001.
- 14) International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Technical guide for sputum examination for tuberculosis by direct microscopy. Bull Int Union Tuberc 1978:4-16.
- 15) Jara Rodríguez JC, Salvadó Lahaye C, Adé y Torrent MP, Negrete Montiel D, Toledo Gehrman I. Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Paraguay. Manual de Diagnóstico Laboratorial del Mycobacterium tuberculosis. Asunción, 2003.
- 16) Kleeberg h, Koornhof H and Palmhert H. Tuberculosis research Institute of the South African Medical Research Council. Laboratory Manual of Tuberculosis Methods. Second edition. Pretoria 1980.
- 17) Laszlo A, Weyer K, Barrera L, Balandrano S, Ridderhof J, Jost K, Smithwick R, Shah K, Lennon G. Baciloscofia Directa de BAAR. programa para Capacitación de Laboratorios. 2000.
- 18) Laszlo A. et al. UICTER. Guía Técnica para los países con escasos recursos económicos. Diagnóstico de la tuberculosis por examen microscópico directo de la expectoración. Quinta edición. París. 2000.

- 19) Latini O. Microscopía. Guía Técnica de la Red de Laboratorios de Tuberculosis de Argentina. Argentina, 2000.
- 20) Lima Campelo C, Duarte Vieira F, Ignez Salem J, Maia R, Vianna Jardim SB, Barroso WJ, Arantes Martetelo A. Tuberculose. Diagnóstico laboratorial Baciloscopia. Ministerio de Saúde de Brasil. Brasilia 2001.
- 21) Luna Heinze A, Lepe Lepe R, Velasco Ramírez M, Arias Muñoz F, Ibarra Ibarra P. Evaluación de la Red de Laboratorios de Tuberculosis de Chile, Año 2002. Santiago 2004.
- 22) Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de la Tuberculosis y otras Micobacterias. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri. Cuba. Procedimiento para el examen de esputo, cultivo e identificación de cepa. La Habana, 1997.
- 23) Menbreño HC, Almeaz NL, Newely Rodríguez Y. Laboratorio Central de Honduras. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos en el Diagnóstico de Tuberculosis por Baciloscopia. Tegucigalpa. 2002.
- 24) Mendía de Campollo E, Tromme M. Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala. Laboratorio Central y de Referencia en Tuberculosis. Manual de Técnicas y Procedimiento de Bacteriología de la Tuberculosis. Guatemala, 2001.
- 25) MMWR Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, December 2003; 52 (RR17); 1-141.
- 26) Normas Técnicas del Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Chile. El Laboratorio en el Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Santiago, 2000.
- 27) Normas Técnicas del Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Costa Rica. 2001.
- 28) OMS. Manual de bioseguridad en laboratorios. 3ª edición. Ginebra. 2005.
- 29) OPS. Manual de Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Parte 1: Baciloscopia. OPS, Washington. 2008.
- 30) Pío A, Chaulet P. Tuberculosis Handbook. WHO/TB/98253. Geneve 1998.
- 31) Prado Malespin MF. Manual del Programa Nacional de Control de Tuberculosis de Nicaragua. Managua, 2001.
- 32) Programa Nacional para el Control de Tuberculosis de Panamá. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Panamá, 2005.
- 33) Rieder HI, Chonde TM, Myking H, Urbancik R, Laszlo A, Kim SJ, Van Deun A, Trébucq A. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. Minimum Requirements, Role and Operation in a Low-Income Country. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. París, 1998.
- 34) Sequeira MD, Latini O, López B, Símboli N, Barrera L. Garantía de Calidad de los Métodos bacteriológicos aplicados al Diagnóstico y control del Tratamiento de Tuberculosis. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" INER E. Coni./ INEI.. DOC. TEC. INER. DyR . Nº 10/03. Argentina 2003.
- 35) Smithwick RC. Laboratory Manual for Acid-fast Microscopy. 2nd.ed. US Department of Health, Education and Welfare, Centers for Disease Control, Bacteriological Division Mycobacterial Reference Section; Atlanta, Georgia, 1979.
- 36) Suárez A. PG. Actualización de la Doctrina, Normas y procedimientos para el Control de la Tuberculosis en Perú. Lima, 2000.
- 37) Tratamiento de la Tuberculosis. Directrices para los Programas Nacionales. WHO/TB/97220. Geneve, 1995.
- 38) Treatment of TB Guidelines for National Programs. WHO/CDS/TB 2003, Geneve, 2003.
- 39) WHO. Toman's Tuberculosis. Case detection, treatment and monitoring: questions and answers. T. Frieden, editor. 2ª edition. WHO, 2004.

ANEXOS

1. NORMAS MÍNIMAS DE BIOSEGURIDAD

La información disponible evidencia contundentemente que el personal de salud con mayor riesgo de contraer tuberculosis es el que asiste directamente al SR particularmente médicos, enfermeras, personal que recibe la muestra de los pacientes. Es menor el riesgo del personal que se desempeña dentro del laboratorio.

Ningún elemento de protección es tan necesario como la información, la organización en el trabajo, la concentración, el estado de alerta y la implementación de medidas de precaución muy simples y de poco costo.

Información y monitoreo médico del personal de laboratorio

- Los trabajadores de salud infectados con VIH, con otra enfermedad inmunosupresora, con tratamientos prolongados con medicamentos inmunosupresores o diabéticos deberán ser reasignados fuera de las áreas de alto riesgo del laboratorio de tuberculosis. Los que padecen enfermedades pulmonares crónicas deben contar con autorización de su médico para ser incorporados a las tareas del laboratorio.
- En el momento de ingreso, el personal deberá ser claramente instruido acerca de cómo se transmite la tuberculosis y las medidas de bioseguridad que deberá aplicar en su trabajo cotidiano. Para ello, el laboratorio debe contar con un documento escrito que el personal debe leer. Debe ser evaluado el grado de comprensión, registrada la evaluación y archivada en su hoja de vida.
- Son necesarias reuniones periódicas con todo el personal de laboratorio, destinadas a recordar las medidas de bioseguridad, analizar si se están cumpliendo con regularidad, dilucidar las causas de los accidentes que pudieran haberse producido y realizar las correcciones que fueran necesarias en la rutina de trabajo
- Los laboratoristas deben ser incorporados a un programa regular de vigilancia de salud para los trabajadores de laboratorio, siguiendo la normativa vigente por el Programa Nacional de Control de Tuberculosis.
- Esta normativa consiste en una evaluación médica clínica anual sistemática con placa de tórax. A los Sintomáticos Respiratorios realizar baciloscopía y cultivo.
- Además, se debe realizar prueba tuberculínica al ingreso al establecimiento de salud. En caso de obtener un resultado negativo repetirla 1-2 semanas después de la primera lectura. Si persiste negativa realizar controles anuales para evaluar viraje tuberculínico.
- Se debe indicar quimioprofilaxis en aquellos trabajadores de la salud que presenten viraje tuberculínico en el control anual, después de descartar la enfermedad activa.

- Cada laboratorio debe contar con instrucciones escritas y difundidas sobre el manejo de pacientes con tuberculosis y de las muestras biológicas obtenidas de los mismos. En cada sección deben estar expuestas las normas básicas de bioseguridad específicas para cada tipo de tarea.
- El personal debe conocer quien es el supervisor responsable a quien le debe notificar inmediatamente cualquier accidente de trabajo.
- Se deben registrar todos los accidentes e incidentes que ocurren dentro del laboratorio (derrames, heridas, rotura de tubos, etc.), identificando el personal expuesto, el material biológico involucrado, y, si corresponde, intervención del asegurador de riesgo y asistencia médica brindada.

Precauciones generales de trabajo

Básicamente es necesario aplicar todas las medidas lógicas para evitar la generación y movimiento de aerosoles. Ninguna medida ni elemento de protección reemplaza la renovación de aire del área de trabajo.

- No beber, comer ni fumar en el área de trabajo con material potencialmente infeccioso. Destinar un área separada, no expuesta a riesgo biológico, para refrigerios.
- Manipular el material potencialmente infeccioso en áreas alejadas de la circulación general. Restringir el acceso al laboratorio de personal ajeno al área de trabajo para evitar movimientos, corrientes de aire, distracciones y exposición de personas no involucradas. Atender al personal del centro de salud y pacientes fuera del área de manipulación de muestras del laboratorio.
- El laboratorio deberá contar con ventanas o extractor de aire que permita renovar el aire del laboratorio. El equipo de extracción de aire deberá tener un caudal aproximado de 6 a 12 cambios de aire por hora. Aunque la ventilación natural se considera aceptable, se prefiere la ventilación mecánica, ya que asegura la unidireccionalidad del flujo de aire. En todos los casos, se debe asegurar que la corriente del aire no esté dirigida a la mesada en la que se preparan los extendidos.
- Los equipos de aire acondicionado deben ser colocados correctamente considerando la dirección del flujo de aire, y siempre debe asegurarse que la corriente de aire no esté dirigida a la mesada en la que se preparan los extendidos.
- Trabajar en áreas con pisos y paredes impermeables, limpiarlos diariamente con hipoclorito de sodio diluido al 0,1%. El fenol es el desinfectante más efectivo en tuberculosis pero, con el uso frecuente y prolongado, puede causar escoriaciones en la piel y problemas renales si es absorbido por éste órgano. Además es un tóxico ambiental. Por estas razones debe ser utilizado únicamente ante derrame de material orgánico sobre la mesada de trabajo o el piso y sin excesos. No barrer ni limpiar superficies en seco, utilizar siempre un paño húmedo. No encerar. No levantar polvo al limpiar.
- No ubicar en el área de trabajo elementos innecesarios ni sacar de la misma, libros de registro o elementos allí utilizados.
- Utilizar siempre guardapolvo de mangas largas y cerrado, preferentemente batas con puños cerrados y sin aberturas en la parte anterior; no sacarlo del servicio de salud, donde debe ser lavado y desinfectado (con agua caliente y enjuague con agregado de hipoclorito).

- No es necesaria la utilización de barbijos para la realización de la baciloscopía pero deben estar disponibles en un área adyacente al laboratorio, para el caso de accidente. Tanto para el caso de accidente como para el caso en que se decida emplearlos en forma rutinaria, se deberá asegurar que:
 - Los barbijos tengan filtrado de alta eficiencia (HEPA) N 95 con certificación de una agencia de seguridad laboral (como el Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional de EE UU, NIOSH). Los barbijos de cirugía no son adecuados
 - El personal esté entrenado para la buena colocación, ajuste y uso de barbijos como elemento de protección, y en la forma de guardarlos adecuadamente, si son reutilizados (sin tocar con las manos la parte interior que apoya sobre la boca, sin aplastarlos, envueltos en una toalla de papel o dentro de una bolsa de papel, pero no en bolsas plásticas que retienen la humedad, en lugar limpio y seco).
- Usar guantes para manipular muestras biológicas; tener presente que las muestras pueden contener otros microorganismos, además de micobacterias, incluyendo el virus de hepatitis B, C y/o el de VIH. Entrenar al personal sobre el uso adecuado de guantes como elemento de protección para que no sean elementos de dispersión de contaminación. Controlar que no haya heridas o escoriaciones en las manos, si existen cubrirlas con vendaje y doble par de guantes
- Lavarse las manos con frecuencia, aun cuando se usen guantes.
- No tocar instalaciones, material de escritorio o equipamiento del laboratorio sin antes quitarse los guantes y lavarse las manos.
- No introducir en la boca, por ningún motivo, ningún elemento utilizado o existente en el laboratorio.
- Al finalizar la tarea, desinfectar las superficies de mesadas donde se realizaron los extendidos y donde se apoyó recipientes con material potencialmente infeccioso.

Precauciones en la toma y manipulación de las muestras

Se deben tomar en cuenta todas las recomendaciones hechas en este Manual al describir los procedimientos. En resumen:

- Recolectar las muestras de esputo en un lugar bien ventilado, nunca en el laboratorio, utilizando frascos de boca ancha y cierre hermético
- Evitar nebulizaciones en sintomáticos respiratorios; si fueran necesarias hacerlas en una sala con adecuadas condiciones de ventilación. Después de ser utilizadas en la nebulización, sumergir las máscaras y conexiones en solución de hipoclorito de sodio al 1% durante una hora, enjuagarlas y lavarlas con detergente y abundante agua
- Para el transporte de muestras
 - Colocar cada frasco en una bolsa de polietileno y anudarla en su parte superior. Emplear cajas rígidas, resistentes, impermeables, con cierre hermético y divisiones interiores. Acomodar cada envase dentro de una división. Ubicar esta caja dentro de otra caja con características similares pero sin divisiones y de tamaño ligeramente mayor, relleno los espacios vacíos para evitar movimientos.
 - Colocar los formularios de solicitud de estudios bacteriológicos dentro de una bolsa de nylon fuera del envase secundario.
- Si estuvieron en movimiento, dejar reposar los envases con las muestras al menos durante 20 minutos antes de abrir las tapas, abrir cada tapa con cuidado y cerrarla herméticamente luego de tomar la muestra.

- Al recibir la muestra comprobar que no haya derrames. Si existiera un derrame pequeño desinfectar el exterior del envase y el contenedor donde fue transportado con algodón embebido en hipoclorito al 1%. Si el derrame hubiera sido masivo, esterilizar en autoclave o en olla a presión el frasco y el contenedor en el que fue trasladado al laboratorio. Si el tratamiento anterior no fuera posible, agregar hipoclorito de sodio al 2% al frasco y contenedor, dejar los envases tapados hasta el día siguiente, eliminar el frasco con los desechos patógenos habituales del laboratorio y lavar el contenedor en el que fue trasladado.
- Sistematizar el procesamiento de las muestras, no es recomendable trabajar con más de 12 muestras simultáneamente.
- Preferir palillos para realizar los extendidos. Si se usa asa, preferir aquellas que sean descartables y gruesas (de costo similar al palillo). En caso de disponer de asa reutilizable sumergirla en un frasco con arena y fenol al 5% una vez realizado el extendido, y luego quemarla en el mechero, comenzando desde la zona más cercana al mango hacia el aro. No es recomendable usar pipeta para realizar solamente el extendido; si se usa, cuidar que la boca de la pipeta esté protegida con algodón; pipetear con propipeta.
- Realizar movimientos lentos y suaves cuando se hacen los frotis.
- Disponer siempre de un frasco cerrado conteniendo con fenol al 5%, y otro con una solución de hipoclorito de sodio al 1%.
- Trabajar con un mechero entre los especímenes y el operador al realizar los extendidos.
- Conservar los bordes de las láminas limpios, sin muestra.
- Colorear las láminas tan pronto estén secas y fijadas a la llama.

Manipulación y uso de desinfectantes

Para la desinfección de superficies se aconseja el hipoclorito de sodio al 1%. Sólo para la limpieza del piso se puede utilizar el hipoclorito al 0,1%.

La lejía o lavandina de uso doméstico de buena calidad contiene hipoclorito de sodio en una concentración que varía entre el 3 y 6%. Así por ej., si se parte de una que contenga 5%, se prepara cada concentración mezclando:

- **Solución de hipoclorito de sodio 1%:** 1 parte de lejía más 4 partes de agua.
- **Solución de hipoclorito de sodio 0,1%:** 25 ml de lejía por cada litro de agua.

Mantener la lejía al abrigo de la luz, en lugar seco y fresco y con tapa bien cerrada para evitar que se deteriore. En los envases figura la fecha de envasado, debe ser controlada al adquirirla. Las diluciones de hipoclorito deben ser hechas inmediatamente antes de utilizar el desinfectante porque la dilución pierde actividad con el paso del tiempo.

Para la preparación y uso de estas soluciones antisépticas se recomienda tener en cuenta lo siguiente:

- Manipular con mucho cuidado el fenol. Es una sustancia corrosiva. Mantener el fenol acuoso en frascos con cierre hermético, en un lugar fresco, al abrigo de la luz y preferentemente en un lugar de almacenamiento alejado del área de trabajo.
- Mantener el fenol al 5% al alcance de la mano, en frascos con cierre hermético que evite que se escapen vapores.

- Evitar el contacto directo del fenol con la piel o mucosas. Utilizar guantes para manipularlo.
- Reducir los vapores de fenol que se desprenden de la fucsina ubicando la tinción de los extendidos en un área bien ventilada y limitando el número de extendidos a colorear a 12.

Manipulación de otras sustancias químicas

- Manipular con mucho cuidado los ácidos concentrados. Agregar siempre el ácido al agua y no al revés.
- No utilizar alcohol cerca de la llama del mechero para evitar que se prenda fuego y posibles quemaduras.

Procedimientos frente a un accidente de trabajo

- Aunque no es necesario utilizar respiradores para realizar baciloscopías, estos deben estar disponibles en caso de accidente.
- Ante cualquier rotura de envases o salpicadura con material potencialmente infeccioso, la persona más entrenada presente debe:
 - Hacer retirar de inmediato a todo el personal del área.
 - Ponerse el barbijo ubicado en un área contigua al laboratorio (si no está siendo utilizado en forma rutinaria) e ingresar al área laboratorio de baciloscopía.
 - Cubrir inmediatamente la zona del derrame con papel y embeberlo con fenol al 5% o, si el derrame con material orgánico no fuera muy importante, con hipoclorito de sodio al 1%.
 - Mantener las ventanas abiertas o dejar en funcionamiento el sistema de ventilación mecánica y salir.
 - Impedir el re-ingreso del personal al área de trabajo por 60 minutos, colocando un cartel que indique la prohibición del ingreso al área.
 - Al cabo de ese tiempo, regresar, recoger el material con pinzas y depositarlo en un recipiente donde pueda ser decontaminado.
- Si se produce herida cortante o punzante en el momento en que se está manipulando muestras, extendidos, o material descartado, lavarse las manos o zona afectada de inmediato con abundante agua y jabón y aplicarse inmediatamente etanol al 70-80%.
- Si se produce una salpicadura que afecte el ojo con material potencialmente infeccioso o un reactivo, lavarlo con agua destilada estéril utilizando un recipiente estéril aplicado sobre el ojo.
- Si se produce contacto con un ácido concentrado, lavar la zona y ropa afectada con abundante agua.
- Comunicar al supervisor el accidente luego de tomar las medidas descriptas.
- Toda vez que se hubiera producido el contacto con una muestra en la que se han detectado bacilos con una herida o penetración cutánea o por mucosas, después del urgente lavado y limpieza local, debe ser consultado un médico para que controle al trabajador y disponga la administración de quimioprofilaxis si es pertinente.

2. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Para la técnica de Ziehl Neelsen

Fucsina básica fenicada

- Fucsina básica 3 g
- Alcohol 95° 100 ml
- Fenol acuoso¹ 55 ml
- Agua destilada c.s.p. 1.000 ml

Se disuelve la fucsina básica en el alcohol, agitando suavemente y se agrega el fenol acuoso; se deja reposar hasta el día siguiente; se agita suavemente y se agrega agua destilada para completar un litro. Se filtra antes de usar.

Guardar todas las soluciones en frascos muy limpios, con buen cierre.

Rotularlos con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento. Almacenar a temperatura ambiente, al abrigo de la luz.

Solución decolorante

Agregar siempre el ácido al alcohol, suavemente, y no al revés porque la temperatura de la solución aumenta explosivamente:

- Ácido clorhídrico p.a. 3 ml
- Etanol 95° 97 ml

Rotular la botella con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento. Almacenar a temperatura ambiente.

Azul de metileno

- Cloruro de azul de metileno 0,1 g
- Agua destilada 100 ml

Disolver el azul de metileno en el agua agitando suavemente, guardar la solución resultante en una botella color ámbar. Rotular la botella con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento. Almacenar a temperatura ambiente y filtrar antes de usar.

¹ El fenol acuoso se prepara fundiendo con cuidado, en baño maría, el fenol en cristales con 100 ml de agua destilada por cada Kg de fenol (preferentemente calentado con calentador eléctrico o con llama a baja intensidad y con la tapa del frasco ligeramente abierta); de esta manera se mantiene líquido y debe conservarse al abrigo de la luz para evitar su oxidación.

Precauciones con los colorantes

- Los colorantes, especialmente la fucsina básica, deben ser de buena calidad. Puede resultar conveniente que se realice una compra centralizada para garantizar buena calidad en todos los servicios de una jurisdicción. Verificar que la pureza de la fucsina sea superior al 88% y la del azul de metileno sea superior al 82%. De no ser así deben ajustarse las cantidades teniendo en cuenta el grado de pureza. Ej.: si el grado de pureza es 75% divida 3g en 0,75= 4 g y pese esta cantidad.
- Utilizar guantes para manipular todos los reactivos.
- Verificar que el fenol no esté pigmentado. Debe conservarse al abrigo de la luz para evitar su oxidación.
- Si bien los colorantes de la tinción de Ziehl Neelsen pueden ser utilizados durante 6 meses, es conveniente preparar los volúmenes que se han de consumir en no más de dos meses. Todo reactivo con características anormales (llamativamente precipitado, turbio, etc.), o conservado por más de 6 meses, debe ser descartado.
- Mantener todas las soluciones preferentemente en envases color ámbar, cerrados herméticamente y protegidos de la luz. Si no se dispone de frascos color ámbar, pueden ser envueltos en papel metálico. Lavar bien estos frascos antes de reutilizar enjuagándolos con alcohol o con la misma solución decolorante para disolver los cristales que pudieran haberse formado.
- Si se usan colorantes listos para usar preparados por la industria, consultar a los responsables de la Red de Laboratorios sobre su calidad ya que es muy variable.
- Mantener un registro en donde anote la fecha y el volumen de cada reactivo que se ha preparado y el resultado del correspondiente control de calidad.

Cuidado y mantenimiento de la balanza

La balanza en la que se pesan los colorantes es un instrumento delicado y de precisión que debe ser utilizado con cuidado. Es recomendable que sólo pese hasta 200g con una precisión de 0,1g. Se debe consultar siempre el manual de uso:

- Ubicar la balanza en una mesa firme, libre de vibraciones y bien nivelada.
- Proteger la balanza de las corrientes de aire.
- Mantener siempre la balanza y las pesas (en el caso de utilizar una balanza de doble patillo) limpias y secas para protegerlas de la corrosión. Cualquier cambio en la superficie de cualquiera de las partes puede afectar la precisión.
- Tener en cuenta que la fucsina y el azul de metileno pueden manchar intensamente toda superficie donde caigan. No colocar el material a pesar directamente sobre el platillo sino sobre un recipiente o un papel apropiados. Restar el peso del papel o recipiente del peso total con reactivos.
- Descargar los colorantes u otras drogas de a poco y muy suavemente hasta alcanzar el peso requerido. No volver a colocar excedentes en el envase original para evitar la contaminación de los productos contenidos en él.
- Al menos dos veces por año controlar la precisión de la balanza verificando el peso exacto de una pesa de 1g en muy buen estado de conservación, o una cantidad similar de un reactivo pesado previamente en otra balanza que se conoce que está bien calibrada.

Cálculo de stock de reactivos

Con objeto de asegurar un abastecimiento continuo de material de laboratorio, los laboratorios deben planificar las solicitudes de insumos para un período de tiempo.

Es posible calcular los reactivos necesarios verificando en el registro del laboratorio el número de casos diagnosticados por baciloscopía durante el periodo determinado.

El siguiente es un ejemplo de cómo se calcula el número de baciloscopías a realizar durante un trimestre tomando este parámetro.

Suponiendo que:

- La proporción de casos detectados por baciloscopía entre los sintomáticos investigados es del 5% (es decir que entre 20 SR examinados se encuentra 1 caso con baciloscopía positiva).
- Cada sintomático es investigado mediante 2 baciloscopías.
- Cada caso de tuberculosis con baciloscopía positiva es monitoreado con 3 exámenes de control.
- Se han diagnosticado aproximadamente 10 casos por baciloscopía en un trimestre.

Será necesario realizar 43 baciloscopías por cada caso detectado por baciloscopía, según se obtiene con el siguiente cálculo:

- $(1 \text{ caso de tuberculosis} + 19 \text{ SR negativos}) \times 2 = 40 \text{ baciloscopías de diagnóstico.}$
- $1 \text{ caso de tuberculosis} \times 3 \text{ baciloscopías} = 3 \text{ baciloscopías de control de tratamiento.}$

Es decir que para un trimestre será necesario calcular que el stock de reactivos sea suficiente para realizar 430 baciloscopías.

Si no se prevé modificaciones en la actividad de detección de casos, el total de baciloscopías a realizar también puede ser estimado simplemente consultando el total de baciloscopías realizado durante el trimestre anterior.

Es conveniente calcular el stock necesario agregando un mes adicional de trabajo para cubrir imprevistos en la carga de trabajo o retrasos en la entrega de los insumos.

En el ejemplo anterior a las 430 baciloscopías calculadas, se le sumarían 143 más, lo que hace un total de 573 baciloscopías.

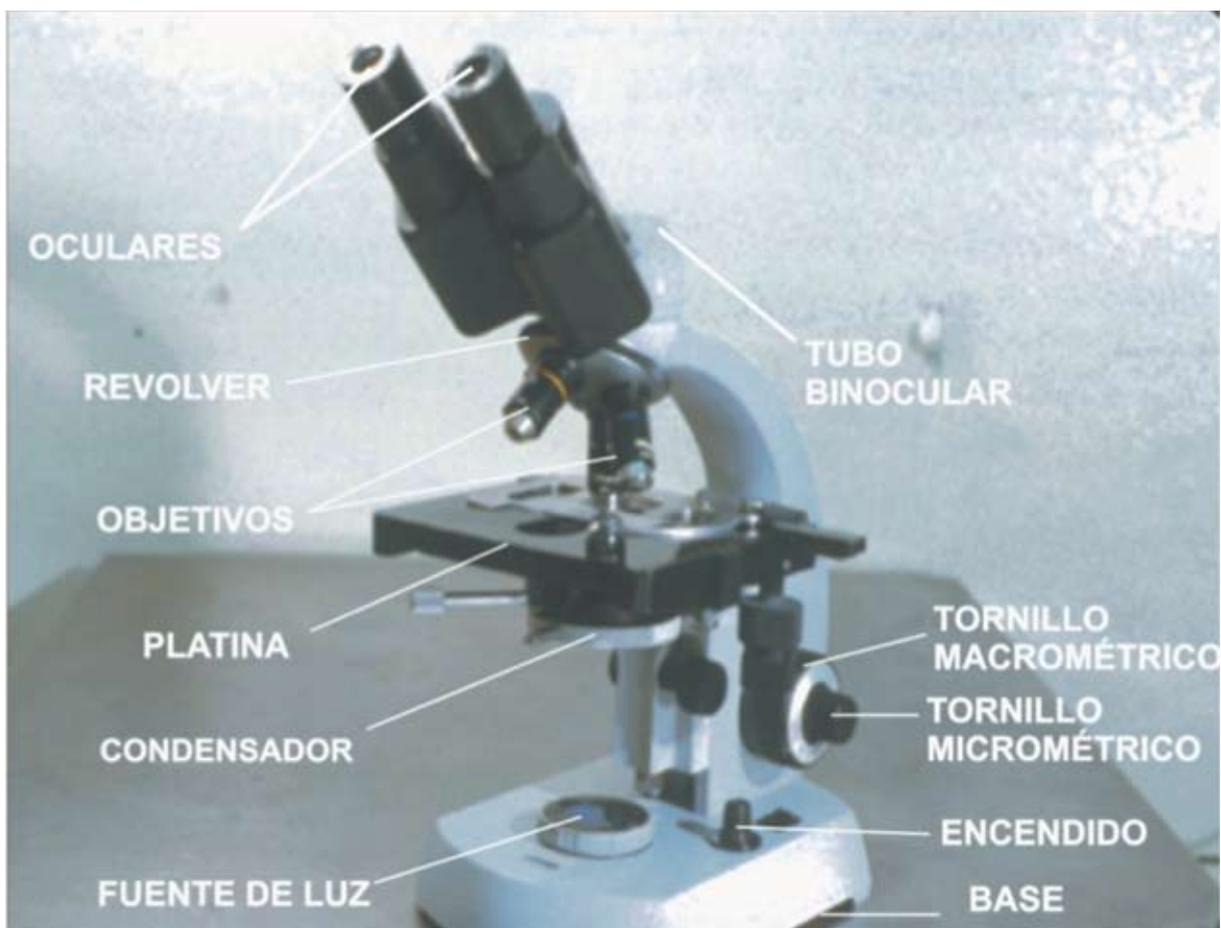
	Cantidad necesaria por baciloscopia a realizar	Stock para un trimestre	Cantidad a solicitar
	(a)	(b) = a x 573	(redondeo)
Envase para muestras	1	573	600
Portaobjetos	1	573	600
Aplicadores	1	573	600
Aceite de inmersión	0,05 ml	29 ml	30 ml
Fucsina básica	0,015 g ó 3 ml si recibe el colorante preparado	8,6 g ó 1719 ml	10 g ó 2,0 litros
Alcohol 95°	5,85 ml	3352 ml	3,5 litros
Fenol en cristales	0,15 g	85,9 g	100 g
Ácido clorhídrico	0,15 ml ó 5 ml si recibe el reactivo preparado	85,9 ml ó 2865 ml	100 ml ó 3 litros
Azul de metileno	0,003 g ó 3 ml si recibe el colorante preparado	1,7 g ó 1719 ml	2 g ó 2,0 litros
Xilol	3 ml	1719 ml	2,0 litros
Papel de filtro	Un rollo por mes		
Agua de lavandina (solución doméstica)	0,1 ml	57,3 ml	60 ml
Lámpara para microscopio	Una por año		

3. MICROSCOPIO

Como el ojo humano no puede ver los objetos de un diámetro menor que 0,1mm, es necesario magnificar a las bacterias para que puedan detectarse. Esto es posible con un microscopio. Quedan magnificadas tantas veces como resulta de multiplicar el aumento del objetivo por el aumento del ocular del microscopio.

Del buen estado y uso del microscopio depende la calidad de la baciloscopía. Debe ser operado con mucha delicadeza. Todo el personal de laboratorio que lo utilice debe estar entrenado para manejarlo y mantenerlo, sabiendo para qué sirve cada una de las piezas que lo componen. Movimientos bruscos o sin sentido afectan el buen funcionamiento del equipo y ponen en peligro la precisión del examen microscópico. Los restos de aceite de inmersión, el polvo, cualquier tipo de suciedad y la humedad afectan al equipo y ponen en peligro la precisión del examen microscópico.

Componentes



Parte mecánica

La base o el pie del microscopio que sirve de sostén a la platina en la que se coloca el porta-objetos debe ser lo suficientemente pesada como para que el aparato sea estable. La platina tiene

abrazaderas para sujetar el portaobjetos y un vernier que permite ubicar un campo determinado. Los movimientos en línea horizontal y vertical de esa abrazadera se controlan mediante dos tornillos. El brazo sostiene el portaoculares y un revolver portaobjetivos que permite ubicar lentes con varios aumentos y puede ser reemplazado en caso necesario. Los dos oculares pueden ser aproximados o separados para adaptar su posición a la distancia entre las pupilas del observador.

Un tornillo grueso (macro) permite subir y bajar el brazo con movimientos amplios y otro más pequeño (micro), con movimientos muy sutiles, de manera que es posible ajustar la posición del objetivo durante el examen.

Elementos ópticos y de iluminación

Para el examen de los frotis teñidos mediante la técnica de Ziehl Neelsen se recomienda utilizar un microscopio binocular es decir, un microscopio con dos oculares 8 ó 10 x. Se requiere además un objetivo con lente retráctil de inmersión 100 x (de preferencia planacromática), de manera que combinados magnifiquen 800 ó 1000 aumentos.

El espejo con dos caras, una plana y otra cóncava, direcciona un haz de luz de la fuente de iluminación al eje óptico del microscopio.

Por lo general, la fuente de iluminación está fijada al pie del microscopio y utiliza una bombilla de halógeno, pequeña y de gran intensidad. También pueden emplearse lámparas con filamento de tungsteno. Las lámparas resisten un número limitado de horas de uso, por lo que siempre hay que tener al menos una de repuesto. En la actualidad se ofrecen también lámparas LED, que tienen la ventaja de tener mayor durabilidad, no es necesario centrarlas y producen poco calor. La fuente permite aumentar o disminuir la intensidad de la iluminación. También tiene un diafragma que puede ser abierto o cerrado girando un anillo, para dispersar o concentrar el haz luz respectivamente.

Si no se dispone de electricidad, debe usarse luz natural como fuente de iluminación colocando el microscopio frente a una ventana que permita entrar la luz solar plenamente.

El condensador es una lente ubicada debajo de la platina que concentra la luz en el portaobjetos. En esta pieza hay un tornillo que permite subir y bajar esta lente, y otros dos, generalmente más pequeños, que permiten mover el haz de luz que pasa por el condensador. El condensador tiene su propio diafragma que permite dispersar o concentrar el haz de luz que pasa por él y, generalmente, es operado con una palanquita.

Manejo

Centrado de la iluminación

Con el siguiente procedimiento es posible centrar la iluminación del microscopio sobre el campo de observación del frotis, para evitar la refracción y obtener la mejor imagen posible.

- Enchufar el microscopio, si se utiliza electricidad, o de lo contrario captar con el espejo la luz natural.
- Enfocar lo mejor posible un frotis con la lente de inmersión que va a ser utilizada (ver más abajo).
- Cerrar totalmente el diafragma de la fuente de iluminación.

- Identificar un círculo de luz al mirar por los oculares. Si el campo está totalmente oscuro, el haz de luz está muy descentrado. Proceder con los siguientes pasos:
 - Suave y lentamente, girar los tornillos del condensador hasta que el haz de luz aparezca y /o esté centrado en el campo de observación.
 - Suave y lentamente, mover la posición del condensador hacia arriba y abajo hasta encontrar la posición en la que el borde el haz de luz sea lo mas nítido posible.
 - Abrir el diafragma del condensador dos terceras partes de la apertura total.
 - Abrir el diafragma de la fuente de iluminación hasta que el haz de luz alcance los bordes del campo de observación, no más que eso.
- La intensidad de la luz de la lámpara puede ser regulada según la preferencia del microscopista. También es posible agregar un filtro sobre la fuente de iluminación para suavizarla.
- Una vez centrada la iluminación, no mover ni los diafragmas ni el condensador hasta que se detecte que es necesario repetir el procedimiento porque la imagen es refringente o imprecisa. Si se opera con delicadeza el microscopio, no es necesario repetir el centrado sino después de varios días o aun meses de trabajo.

Enfoque y control de la limpieza del microscopio

- Verificar que las lentes, los espejos y otras superficies que transmiten luz estén limpios.
- Subir el revólver con los objetivos con el tornillo macro.
- Girar el portaobjetivos y ubicar la lente de inmersión en posición para ser utilizada.
- Tomar un extendido positivo para controlar el funcionamiento del microscopio y la calidad de la coloración del día.
- Verificar que el material coloreado esté hacia arriba.
- Apoyando el portaobjetos sobre la mesa **dejar caer** una gota de aceite de inmersión sobre el frotis coloreado, en la parte más cercana al número. No toque el extendido con la punta del gotero o varilla para evitar transferir material de un extendido a otro y generar falsos resultados positivos.
- Verificar que la cara inferior de la lámina esté bien limpia.
- Ubicar la lámina en la platina y asegurarla con la abrazadera.
- Mover la platina con los tornillos correspondientes en las cuatro direcciones posibles para verificar que el desplazamiento se produce sin dificultad.
- Ubicar luego la gota de aceite justo debajo de la lente de inmersión.
- Bajar la lente de inmersión lentamente con el tornillo macro hasta que toque ligeramente el aceite.
- Observar a través de los oculares y continuar bajando muy suave y lentamente hasta ver microorganismos o células coloreadas en el extendido.

- Ajustar suavemente el tornillo micro hasta ver la imagen nítida.
- Verificar si se observan “artefactos”, es decir cuerpos extraños, o BAAR que se mueven anormalmente.

Si los artefactos o BAAR se mueven libremente y pasan bajo la mirada del observador sin que pueda detenerlos, pueden ser restos provenientes de otra baciloscopía que fueron arrastrados por el aceite de inmersión. Limpiar el aceite del objetivo. Verificar que no esté contaminado el aceite contenido en el frasco en uso volviendo a enfocar otro preparado con una nueva gota de aceite.

Si los artefactos se mueven cuando se desplaza el portaobjetos, pueden ser precipitados o suciedad incorporada accidentalmente en el frotis.

Si solo se mueven cuando se gira el ocular, se trata de suciedad que está en el ocular, proceder a limpiarlo.

Si no se mueven, la suciedad o bacilos contaminantes puede estar en los objetivos, el condensador, el espejo o la fuente de iluminación, proceder a limpiarlos.

Cuidados

- El microscopio debe estar ubicado siempre en un ambiente seco (el moho puede crecer sobre las lentes), libre de polvo y sobre una superficie sin vibraciones. En áreas geográficas húmedas se recomienda emplear microscopios que posean tratamiento antifúngico, ya que el mismo ayuda a proteger las partes ópticas del equipo.
- No retirar las láminas sin levantar antes el revólver con el objetivo, para no rayar las lentes.
- Al terminar las lecturas del día, cubrir el microscopio con su funda.
- Si no está en uso, guardarlo en una caja con gel de sílice; cuando el gel cambie su color de celeste a rosa se ha humedecido, debe ser restaurado calentándolo en estufa con atmósfera seca.
- Limpiar con papel para lentes o pañuelos de papel suaves la óptica del microscopio. No utilizar solventes (alcohol, xileno, benceno, acetona) para limpiar los objetivos a menos que la suciedad sea resistente a la limpieza con papel. Estos solventes pueden disolver los pegamentos de las lentes y permitir que el aceite de inmersión penetre en ellas.
- El mantenimiento debe ser realizado por personal técnico especializado. El mantenimiento preventivo debe ser programado para interferir lo mínimo posible con el trabajo de rutina, debe ser periódico, al menos anual. El correctivo (reparaciones y reemplazo de piezas dañadas del microscopio) es eventual.

4. MODELOS DE FORMULARIOS Y REGISTROS

SOLICITUD DE ESTUDIOS BACTERIOLÓGICOS DE TUBERCULOSIS	
DATOS DEL PACIENTE	
Apellido y Nombres: H. C. N°: Documento: Fecha de nacimiento: / / Edad: Sexo: F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> Nacionalidad: Domicilio: Localidad: Partido/Dpto.: Provincia: País de residencia anterior: Teléfono: Tratamiento previo para tuberculosis: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Servicio que deriva la muestra: Fecha: / /	
SOLICITUD DE ESTUDIOS	
BACILOSCOPIA <input type="checkbox"/>	
Para diagnóstico: <input type="checkbox"/> Muestra: 1 ^{ra} <input type="checkbox"/> 2 ^{da} <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Para control de tratamiento: <input type="checkbox"/> Mes de tratamiento: Muestra de: Resultado de la baciloscopía:	
CULTIVO <input type="checkbox"/>	
Sintomático Respiratorio con dos ó más baciloscopías de esputo negativas: <input type="checkbox"/> Enfermedad extrapulmonar: <input type="checkbox"/> Otro: <input type="checkbox"/> Describir:	
CULTIVO Y PRUEBA DE SENSIBILIDAD <input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/> Retratamiento: <input type="checkbox"/> Abandono <input type="checkbox"/> Fracaso <input type="checkbox"/> Recaída <input type="checkbox"/> Personal de salud <input type="checkbox"/> Privado de la libertad <input type="checkbox"/> Contacto de paciente con TB resistente a las drogas <input type="checkbox"/> Inmunocomprometido <input type="checkbox"/> Diabético <input type="checkbox"/> Niño <input type="checkbox"/> Adicto al alcohol y/o drogas (con baciloscopía positiva o con dos baciloscopías negativas) <input type="checkbox"/> Baciloscopía de esputo positiva después de finalizado el 2 ^{do} mes de tratamiento <input type="checkbox"/> Otro: Solicitante del o los estudios: Firma:	
SOLICITUD DE SEROLOGÍA PARA VIH	
Fecha: / / Servicio: Código de paciente: <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Sexo</div> <div style="text-align: center;"><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/> Nombre y apellido</div> <div style="text-align: center;"><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/> Fecha de nacimiento</div> </div> Embarazo: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> Firma del profesional: Matrícula:	
Consentimiento serología VIH y estudios anónimos	
Firma del paciente: Código: <input type="checkbox"/>	

INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO

Datos del paciente

- Apellido y Nombres: Los que constan en el documento de identidad.
- H. C. N°: Número de historia clínica.
- Documento: Tipo y número de documento de identidad.
- Fecha de nacimiento: La que figura en el documento de identidad.
- Edad: Años cumplidos al momento de la solicitud de la muestra.
- Sexo: Marcar una cruz en el casillero F si es femenino o en el M si es masculino.
- Nacionalidad: La que figura en el documento de identidad.
- Domicilio: Calle y número de residencia del paciente. Si se encuentra en una unidad carcelaria u otra institución cerrada, indicar nombre y ubicación.
- Localidad: Ciudad, región, pueblo, paraje.
- Partido/Dpto.: Según la provincia en la que se ubica la localidad de residencia del paciente.
- Provincia: Nombre de la provincia a la que pertenece la localidad de residencia del paciente.
- País de residencia anterior: Nombre del país en el que residió con anterioridad, si corresponde.
- Teléfono: Fijo y/o celular con código de área.
- Tratamiento previo para tuberculosis: Marcar una cruz en el casillero SI (si el paciente recibió tratamiento completo o incompleto para tuberculosis con anterioridad a la solicitud de la muestra) o NO (si el paciente no recibió tratamiento antituberculoso previo a la muestra).
- Servicio que deriva la muestra: Nombre y dirección del servicio público o privado que envía la muestra (hospital, centro de salud, sistema penitenciario, obra social, clínica, sanatorio, otro).
- Fecha: Día, mes y año en que se solicita el estudio.

Solicitud de Estudios

- **BACILOSCOPIA:** Marcar una cruz si se solicita baciloscopia.
 - Para diagnóstico: Marcar una cruz si la muestra es para diagnóstico.
 - Muestra: Marcar una cruz en el casillero de 1^{ra}, 2^{da}, 3^a, según corresponda. Si el número es posterior, colocar la cruz en el siguiente y escribir el N° correspondiente.
 - Para control de tratamiento: Marcar una cruz si se trata de una muestra para control del tratamiento.
 - Mes de tratamiento: Escribir el número del mes de tratamiento al que corresponde la muestra.
 - Muestra de: Nombrar el tipo de muestra para la que se solicita el estudio bacteriológico.
 - Resultado de la baciloscopia: Registrar el resultado de acuerdo a la escala normada para la Red Nacional de Laboratorios de Bacteriología de la Tuberculosis.
- **CULTIVO:** Marcar una cruz si se debe cultivar la muestra.
 - Sintomático respiratorio con dos o más baciloscopías de esputo negativas: Marque una cruz en el casillero si este es el motivo de la solicitud del estudio.
 - Enfermedad extrapulmonar: Marque una cruz si sospecha tuberculosis extrapulmonar.
 - Otro: Marque una cruz en este casillero si el motivo es cualquier otro.
 - Describir: Precisar el motivo.
- **CULTIVO Y PRUEBA DE SENSIBILIDAD:** Marcar una cruz si se solicita cultivo y prueba de sensibilidad.
 - Marque el motivo por el cual se la solicita. Si indicó Retratamiento, especifique a qué categoría de retratamiento corresponde: Abandono, fracaso o recaída. Si el motivo no está listado, marque una cruz en Otro y precise la causa.
 - Solicitante del o los estudio/s: Nombre y apellido de la persona que solicita el o los estudio/s.
 - Firma: De la persona que solicita.

Solicitud de Serología para VIH

- Fecha: Día, mes y año en que se solicita el estudio.
 - Servicio: Nombre y dirección del servicio público o privado que envía la muestra (hospital, centro de salud, sistema penitenciario, obra social, clínica, sanatorio, otro).
 - Código del Paciente: En la casilla correspondiente a Sexo escriba M (masculino) o F (femenino); en la correspondiente a Nombre y Apellido escriba la primera dos letras del nombre y la primera dos letras del apellido y en las de Fecha de nacimiento el día, el mes (si alguno de los dos datos es de un dígito, completar el primer casillero con el número 0) y el año (anotar los cuatro dígitos).
 - Embarazo: Marcar una cruz en SI (si la persona está embarazada) o en NO (si no existe embarazo).
 - Firma del profesional: Del profesional que solicita la muestra.
 - Matrícula: Del profesional que solicita la muestra.
- **CONSENTIMIENTO SEROLOGÍA VIH Y ESTUDIOS ANÓNIMOS**
 - Firma del paciente: El paciente debe firmar para acreditar que está informado y da consentimiento al estudio.
 - Código: Transcribir el código del paciente.

INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO

- **Servicio de Salud:** Anotar el nombre del hospital, unidad sanitaria, centro de salud u otra institución donde se ubica el laboratorio.
- **Domicilio:** Anotar la dirección completa del servicio de salud.
- **N° de orden:** Numerar en forma correlativa, las muestras que van procesando. Empezar por el número 1 el primer día de enero y terminar el 31 de diciembre, esto permitirá conocer el número de muestras procesadas en el año. Al finalizar cada año cerrar con una línea, colocar el año e iniciar una nueva numeración.
- **Fecha:** Colocar cada día mes y año en números arábigos, cuando se procesa la baciloscopia.
- **Apellido y Nombre:** Escribir con letra de imprenta el apellido y nombre del paciente sintomático respiratorio examinado.
- **Domicilio:** Escribir con letra de imprenta el domicilio de residencia del paciente examinado.
- **Fecha de Nacimiento:** Consignar la fecha de nacimiento del paciente.
- **Servicio de Procedencia:** Consignar el nombre del establecimiento de donde proviene la muestra.
- **Tipo de Muestra:** Especificar si es esputo, contenido gástrico, orina, líquido pleural, biopsia, etc.
- **Calidad del Esputo:** Cuando se trate de muestras de esputo registrar si es mucosa, mucopurulenta o salivosa.
- **Resultados:** Anotar el resultado en el casillero correspondiente:
 - Diagnóstico: Si el paciente es de diagnóstico marcar si es 1ª muestra, 2ª muestra u otra de un sintomático respiratorio.
 - Control de tratamiento: Si es paciente en tratamiento, indicar en qué mes de tratamiento se encuentra el paciente. Si el resultado de la baciloscopia es positivo, anotar el número de cruces en tinta roja.
 - Cultivo: Si se realizó cultivo, anotar el resultado.
- **Observaciones:** Anotar otros datos de interés.

INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO

- **Colorante:** Indicar el reactivo de coloración a controlar.
- **Fecha:** Anotar la fecha de Preparación del reactivo, la fecha de Vencimiento y la fecha en que se está realizando el Control de calidad del reactivo.
- **Observación Microscópica:** Indicar los resultados de la observación microscópica de un Frotis Positivo y otro Negativo anotando para cada caso:
- **Frotis Positivo:**
 - **Lectura:** Registrar la lectura de la baciloscopia de acuerdo a la escala normada en este manual.
 - **Coloración bacilos:** Registrar “buena” cuando los bacilos se vean completa e intensamente coloreados. De lo contrario colocar “mala”.
 - **Cristales o precipitados:** Colocar si/no según se observen o no en el preparado.
 - **Coloración de fondo:** Colocar “buena” cuando sea uniforme, del color esperado y ofrezca buen contraste. De lo contrario colocar “mala”.
- **Frotis Negativo:**
 - **Lectura:** Registrar la lectura de la baciloscopia de acuerdo a la escala normada en este manual.
 - **Cristales o precipitados:** Colocar si/no según se observen o no en el preparado.
 - **Coloración de fondo:** Colocar “buena” cuando sea uniforme y del color esperado. De lo contrario colocar “mala”.
- **Medidas Implementadas:** indicar si el lote del reactivo evaluado fue “aceptado” o “rechazado” y descartadas las soluciones.

INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO

- **Mes:** Colocar el mes al que corresponde el análisis de los resultados.
- **Nº de SR Examinados:** Consignar el número de pacientes sospechosos de tuberculosis pulmonar evaluados por baciloscopia durante el período.
- **Muestras examinadas para diagnóstico:** (corresponde a muestras de origen pulmonar)
 - **Total (Nº):** Consignar el número total de muestras de origen pulmonar examinadas para diagnóstico.
 - **Salivas (Nº y %):** Indicar el número de muestras de esputo que resultaron salivosas y calcular el porcentaje respecto del total de muestras pulmonares examinadas para diagnóstico. Este porcentaje no debe superar el 20%.
- **Casos diagnosticados por baciloscopia:** (corresponde a pacientes con tuberculosis pulmonar)
 - **Total (Nº):** Consignar el número total de pacientes con tuberculosis pulmonar diagnosticados por baciloscopia de muestras de esputo.
 - **Con primera y segunda muestras positivas:** Consignar el número de casos de tuberculosis identificados, con ambas muestras de esputo positivas a la baciloscopia. Calcular el porcentaje respecto del total de casos pulmonares diagnosticados por baciloscopia. Este porcentaje debe ser al menos del 85-90%.
- **¿Se detectó sucesión de resultados positivos?:** Indicar si/no según se halla o no identificado una sucesión de resultados positivos a la baciloscopia durante un día de trabajo.
- **Medidas Implementadas:** Indicar las medidas adoptadas ante la identificación de valores de los indicadores antes mencionados alejados de la normalidad.



**Instituto Nacional de
Enfermedades Respiratorias
“Dr. Emilio Coni”**

Avda. Blas Parera 8260
C.C. N° 6 - Sucursal N° 8
3000 - Santa Fe - Argentina

Telefax (0432) 4892525 / 2827 / 2830 / 6850 / 6851

E-mail: direccionconi@infovia.com.ar