República Dominicana
MINISTERIO DE HACIENDA
DIRECCION GENERAL DE IMPUESTOS INTERNOS
RNC: 401-50625-4
"Año del Desarrollo Agroforestal"

G. L. Núm. 328194

15 FEB 2017

Señora
Altagracia Guzmán Marcelino
Ministra de Salud
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
RNC 401-00739-8
Av. Héctor Homero Hernández V., Esq. Av. Tiradentes, Ens. La Fe
Santo Domingo de Guzmán, Distrito Nacional, República Dominicana

Distinguida señora Guzmán:

En atención a su Comunicación Núm. 008466 recibida en fecha 16 de septiembre de 2016, mediante la cual solicitan la exoneración del pago de los impuestos a los bienes y servicios adquiridos y/o importados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSP), en ocasión de la ejecución del programa de Reducción de la Incidencia y la Mortalidad por Tuberculosis en la República Dominicana, focalizando intervenciones en población clave y grupos de riesgo para el fin de la epidemia en el país", Donación Núm. DOM-T-MSPAS, ante la condicionalidad del Fondo Mundial de que dicha donación esté libre de impuestos bajo las leyes de nuestro país, esta Dirección General, de modo excepcional, ha decidido autorizar la exención correspondiente, en vista de que es una donación que no implica un costo de financiamiento para el país, sino que por el contrario movilizaría la entrada de divisas como aporte del organismo internacional.

En ese contexto, le indicamos que deberá someter una solicitud de exoneración para cada compra específica, a fin de otorgar de forma particular la certificación de exención requerida en cada caso, cumpliendo con las disposiciones establecidas en el Artículo 1 del Decreto Núm. 162-11 que dispone que todas las exoneraciones amparadas por leyes especiales, deberán ser sometidas al Ministerio de Hacienda para su estudio y tramitación.

Atentamente,

Magín J. Díaz Domingo
Director General

DIRECCION GENERAL DE IMPUESTOS INTERNOS
DGII
Santo Domingo, R.D.

MDD
EMC
RA/LCSM

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

"Año de la Innovación y la Competitividad"

Santo Domingo, R.D., 9 de mayo 2019

A: Dra. Belkys Marcelino
Coordinadora División de Tuberculosis
Su Despacho

Belkys Marcelino 9/5/2019

Atención: Licda. Magda Espinal
Gerente Financiera División de TB

Distinguida Dra. Marcelino:

Respetuosamente me dirijo a usted para solicitar Asistencia Técnica para desarrollar las herramientas tecno-didácticas de las acciones formativas virtuales en tuberculosis.

Esta asistencia técnica tiene por objetivo apoyar al Programa de Tuberculosis y el Servicio Nacional de Salud en el diseño, desarrollo e implementación de los cursos virtuales de capacitación del personal de salud en todos los niveles de atención. Se propone desarrollar:

- 1 Curso básico sobre abordaje programático de la tuberculosis
- 1 Curso para procedimientos técnicos para laboratorios de tuberculosis
- 1 Diplomado en manejo clínico-programatico de la tuberculosis

La presente solicitud corresponde al Proyecto: DOM-T-MSPAS-931, Transición con Financiamiento FM 2019-2021, Línea 30 del presupuesto.

Agradeciendo su atención y apoyo a nuestra solicitud, se despide cordialmente

Dra. Katia Romero
Producción Normativa y Desarrollo de capacidades
División de tuberculosis

Se adjunta: Propuesta términos de Referencia de AT

Proyecto: "Reducción de la incidencia y la mortalidad por tuberculosis en la república dominicana, focalizando intervenciones en poblaciones clave y grupos de riesgo para el fin de la epidemia en el país".
Proyecto: Transición de Financiamiento FM 2019-2021

Términos de referencia de asistencia técnica para:
Realizar la Tecno-Didáctica de las acciones formativas virtuales en Tuberculosis.

Título:	Realizar la tecno-didáctica de las acciones formativas virtuales en tuberculosis.
Nivel:	Nacional
Línea presupuestaria:	30
Responsable de su Implementación:	UEP-FM/MSP y División de Tuberculosis.
Período:	Junio – agosto 2019

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
Unidad Ejecutora de Proyectos
Santo Domingo, D.N
Fondo Mundial de lucha contra el VIH, la Tuberculosis y la Malaria

Edna Nodal Borgallo

1. Introducción.

La Unidad Ejecutora de Proyectos con financiamiento del Fondo Mundial es el Beneficiario Principal para el proyecto "Reducción de la incidencia y la mortalidad por tuberculosis en la República Dominicana, focalizando intervenciones en población clave y grupos de riesgo para el fin de la epidemia en el país". Como estructura del Ministerio de Salud Pública le corresponde velar por la implementación del mismo y el alcance de sus objetivos.

En nuestro país, la División de Prevención y Control de la Tuberculosis, de la Dirección General de Gestión de Salud de la Población, del Viceministerio de Salud Colectiva, conduce la respuesta nacional a la enfermedad, que fundamenta su accionar en el Plan Estratégico de lucha contra la tuberculosis 2015-2020, el cual está alineado a la Estrategia Mundial Fin a la Tuberculosis y a los Objetivos de Desarrollo Sostenibles. Esta división opera con la misión de alcanzar los objetivos y metas asumidos por la gestión para reducir la morbilidad y mortalidad por Tuberculosis en el país.

La principal estrategia del Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNCT) es la detección precoz y el tratamiento exitoso de todos los casos captados. Para ello, se fundamenta en una red de servicios de salud que permita captar los casos, diagnosticarlos y tratarlos. Casi la totalidad de los casos son detectados y tratados a través de la red pública de servicios de salud que implementan la estrategia DOTS/TAES o tratamiento acortado estrictamente supervisado.

En el año 2015 la República Dominicana entró en la clasificación del Fondo Mundial de lucha contra el VIH/SIDA, la Tuberculosis y la Malaria como país de ingresos medio-altos. Concomitantemente, la carga de tuberculosis del país pasó de "elevada" a "moderada". Por tanto, sólo será elegible para una asignación final de financiamiento de transición para el período 2019-2021. El propósito de la subvención de transición es respaldar actividades que favorezcan la transición al total financiamiento doméstico de las actividades que actualmente apoya el Fondo Mundial.

Los objetivos del Plan de transición son:

1. Mantener y extender los logros alcanzados en el control de la TB durante la FT a financiamiento con recursos nacionales.
2. Implementar estrategias innovadoras para hacer más eficiente el gasto público de la respuesta nacional a la TB.
3. Movilizar recursos de distintas fuentes públicas para asegurar una transición completa a un financiamiento de la respuesta nacional a la TB con recursos nacionales.

Posteriormente, el 30 de abril, el Mecanismo Coordinador de País remitió la solicitud de financiamiento está fundamentada Plan Estratégico Nacional (PEN) 2019-2021, que incluye el plan de trabajo de transición.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
Unidad Ejecutora de Proyectos
Santo Domingo, D.N
Fondo Mundial de lucha contra el VIH, la Tuberculosis y la Malaria

Edna Nadal Borrello

2. Resumen de Proyecto bajo administración de la UEP-FM

Proyecto: "Reducción de la incidencia y la mortalidad por tuberculosis en la República Dominicana, focalizando intervenciones en poblaciones clave y grupos de riesgo para poner fin a la epidemia en el país".

Meta: "Mantener y extender los logros en el control de la tuberculosis (TB) durante la fase de transición con los recursos nacionales".

Objetivos:

- Implementar estrategias innovadoras para hacer que el gasto público en la respuesta nacional a la TB sea más eficiente.
- Movilizar recursos de diferentes fuentes públicas para garantizar una transición completa a la financiación de la respuesta nacional a la tuberculosis de los recursos nacionales.

3. Descripción funcional:

Responsable de realizar las herramientas tecno-didactas para 3 acciones formativas de carácter virtual en Tuberculosis.

Objetivo general:
Apoyar Técnicamente al Programa de Tuberculosis y el Servicio Nacional de Salud en el proceso del desarrollo e implementación de los cursos virtuales para capacitación del personal de salud en todos los niveles de forma modular.

Objetivos específicos:
1. Desarrollo e implementación del curso básico virtual sobre abordaje programático de la Tuberculosis.
2. Desarrollo e implementación del curso virtual en procedimientos técnicos para laboratorios de Tuberculosis.
3. Desarrollo e implementación del diplomado virtual en manejo clínico programático de la Tuberculosis.

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA
Unidad Ejecutora de Proyectos
Santo Domingo, D.N.
Fondo Mundial de lucha contra el VIH, la Tuberculosis y la Malaria

Edna Nadal Borgalla

4. Funciones, Actividades y Productos

No.	Funciones/Actividades	No.	Productos	Periodicidad
1.	Realización de la planificación del trabajo	1.	Plan de actividades y cronograma	Al inicio del contrato
2.	Integración de Narrativas Digitales, Estrategias Digitales, Info Gestión o Portafolios Integra Activos necesarios.	2	Curso básico virtual sobre abordaje programático de la Tuberculosis.	Trimestral
3.	Material visual necesario.			
4.	Creación e Integración del Contenido Audiovisual necesario.			
5.	Desarrollo de Foros (dudas, expectativas, socialización o debate de unidad).			
6.	Creación de actividades a ser desarrolladas por el participante.			
7.	Desarrollo de evaluaciones de actividades realizadas.			
8.	Coordinación directa con el área metodológica para la organización y presentación de los contenidos			
9.	Carga de material desarrollado a la plataforma virtual seleccionada.			
10.	Integración de Narrativas Digitales, Estrategias Digitales, Info Gestión o Portafolios Integra Activos necesarios.	3	Curso virtual en procedimientos técnicos para laboratorio de Tuberculosis.	Trimestral
11.	Material visual necesario.			
12.	Creación e Integración del Contenido Audiovisual necesario.			
13.	Desarrollo de Foros (dudas, expectativas, socialización o debate de unidad).			
14.	Creación de actividades a ser desarrolladas por el participante.			
15.	Desarrollo de evaluaciones de actividades realizadas.			
16.	Coordinación directa con el área metodológica para la organización y presentación de los contenidos			
17.	Carga de material desarrollado a la plataforma virtual seleccionada.			
18.	Integración de Narrativas Digitales,	4.	Diplomado virtual en manejo	Trimestral

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Unidad Ejecutora de Proyectos Santo Domingo, D.N Fondo Mundial de lucha contra el VIH, la Tuberculosis y la Malaria

Edna Nadal Bonzalo

No.	Funciones/Actividades	No.	Productos	Periodicidad
	Estrategias Digitales, Info Gestión o Portafolios Integra Activos necesarios.		clínico programático de la Tuberculosis.	
19.	Material visual necesario.			
20.	Creación e Integración del Contenido Audiovisual necesario.			
21.	Desarrollo de Foros (dudas, expectativas, socialización o debate de unidad).			
22.	Creación de actividades a ser desarrolladas por el participante.			
23.	Desarrollo de evaluaciones de actividades realizadas.			
24.	Coordinación directa con el área metodológica para la organización y presentación de los contenidos			
25.	Carga de material desarrollado a la plataforma virtual seleccionada.			
26.	Reuniones de monitoreo del proceso metodológico de las acciones formativas	5.	Seis reuniones seguimiento al avance del proceso	Quincenal
27.	Realización de informe	6.	1 informe de avance	Cada 6 semanas
28.	Realización de informe	7.	1 informe final	Trimestral

5. Estructura y mecanismos de trabajo

a. Mecanismos de supervisión:

Las actividades derivadas en el marco de esta asistencia técnica serán supervisadas por la mesa técnica conformada por el equipo técnico de la Unidad Ejecutora de Proyectos de Fondo Mundial y de la División de Tuberculosis. La aprobación final de los productos la otorgará la gerencia del organismo financiante, previa solicitud de la División de Tuberculosis, que incluirá la Minuta del grupo de trabajo de INFOTEP.

b. Articulación y coordinación para la consecución de los productos:

Coordinación interna e interinstitucional, que incluye la División de Tuberculosis: A fin de llevar a cabo las acciones propias asignadas requerirá coordinarse directamente con la coordinación de la transición del UEP-FM/MSP, bajo la instrucción de la gerencia del proyecto.

6. Perfil de los oferentes

- Profesional del área de informática.
- Experto en ambientes virtuales.
- Experiencia demostrable en desarrollo de herramientas tecno-d dáctica de acciones formativas de ambientes virtuales.
- Conocimientos de varias plataformas de campus virtuales

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA Unidad Ejecutora de Proyectos Santo Domingo, D.N Fondo Mundial de lucha contra el VIH, la Tuberculosis y

Edna Nadal Bonzalo

- Experiencia demostrable en la elaboración de acciones formativas en ambientes virtuales.
- Experiencia demostrable de desarrollo de acciones formativa virtuales aprobadas por el INFOTEP.

7. Duración o vigencia de la contratación

El período de vigencia de la contratación se establece por tres (3) meses a partir de la firma del contrato.

8. Condiciones de pago

Esta modalidad de contratación está aprobada por el Fondo Mundial en el marco del Plan de Asistencia Técnica para el 2019.

Se establece un monto total, por los 3 meses de contrato de RD$1,236,500.00 y se pagara de la siguiente manera:

- 20 % a la entrega del producto 1 (Plan de actividades y cronograma)
- 30 % a la entrega del producto 6 (Informes de avance)
- 50 % a la entrega de los productos 2, 3, 4 y 7 (Curso básico virtual sobre abordaje programático de la Tuberculosis, Curso virtual en procedimientos técnicos para laboratorio de Tuberculosis, Diplomado virtual en manejo clínico programático de la Tuberculosis, informe final).

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA
Unidad Ejecutora de Proyectos
Santo Domingo, D.N
Fondo Mundial de lucha contra el VIH,

Edna Nadal Bonzello

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA DR. DEFILLÓ
LABORATORIO DE REFERENCIA NACIONAL DE MICOBACTERIAS
REPÚBLICA DOMINICANA

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA LOS LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
UNIDAD EJECUTORA DE PROYECTOS CON FINANCIAMIENTO
DEL FONDO MUNDIAL-TUBERCULOSIS

ÍNDICE

ÍNDICE 2

PRESENTACIÓN 3

GLOSARIO DE TÉRMINOS 5

ABREVIATURAS 6

INTRODUCCIÓN 8

CAPITULO 1: ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN FUNCIONAL DE LA RED DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS 11

Estructura de la Red de Laboratorios de TB en República Dominicana 11
Funciones de los laboratorios por Niveles en la Red de Servicios 11
Funciones de nivel central: Laboratorio Nacional de Referencia 12
Funciones del laboratorio de nivel regional 13
Funciones de laboratorios de nivel local 14

CAPÍTULO 2: LA MUESTRA 15

Muestras pulmonares (esputo, contenido gástrico y LBA) 15
Muestras extrapulmonares 20

CAPÍTULO 3: LA BACILOSCOPÍA 24

A. Tinción Ziehl Neelsen 24
Fundamento 24
Material a investigar 25
Lugar de trabajo, equipamiento, materiales y reactivos 25
Procedimiento 27
Lectura, interpretación e informe de los resultados 40
B. Tinción con Auramina O 41
Fundamento 41
Material a investigar 43
Lugar de trabajo, equipamiento, materiales y reactivos 43
Procedimiento 44
Interpretación e informe de resultados 50
Control de calidad 51
Sistema de registro e información 56

CAPITULO 4. SISTEMA DE GESTION DE CALIDAD EN LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS 56

Rol de los laboratorios de referencia nacional de tuberculosis en el sistema de gestión de la calidad 64
Programa de garantía de calidad de baciloscopías en la red de laboratorios de tuberculosis 65
Relectura de láminas de rutina enviadas desde el laboratorio efector al laboratorio de referencia 71
Pruebas de eficiencia de lecturas de baciloscopías (supervisión centro- periferia) 71
Supervisión indirecta operacional 78
Rol de los laboratorios de referencia intermedia de tuberculosis 82
Rol del laboratorio de baciloscopías en el sistema de gestión de la calidad 91
Control de calidad de la baciloscopía 92

BIBLIOGRAFIA 99

El capítulo de calidad comprende CCI de las metodologías, CCE y monitoreo de las acciones bacteriológicas y actividades que le corresponden a los laboratorios como componentes esenciales del PCT.

La información asociada y los anexos necesarios para los registros de las distintas metodologías han sido organizadas en un apéndice de Anexos. En estos últimos se ha incorporado un acápite final de los Nuevos Indicadores de la OMS para los laboratorios de tuberculosis.

Para fines prácticos y operativos, el Manual se ha dividido en tres:

1. El primero, Manual de Procedimientos Técnicos para Laboratorios de Complejidad Técnica Tipo III, diseñado para los laboratorios de menor nivel de complejidad, incluye las metodologías realizadas sólo a ese nivel: baciloscopía, con tinciones de Ziehl Neelsen y fluorescente y el control de calidad correspondiente.

2. El segundo, Manual de Procedimientos Técnicos para Laboratorios de Nivel de Complejidad Técnica Tipo II, correspondiente al nivel de complejidad inmediatamente superior, es la misma versión anterior a la que se ha agregado cultivo en medio sólido y líquido, test de identificación por medio de inmunocromatografía y Xpert MTB/RIF, más sus correspondientes controles de calidad interno y externo.

3. Por último, la versión completa, Manual de Procedimientos Técnicos para Laboratorios de Nivel de Mayor Complejidad Técnica, para el laboratorio de referencia nacional, contempla todo lo anterior más pruebas de identificación, de susceptibilidad a fármacos antituberculosos e hibridación reversa en tiras con sondas o LPA (por su sigla en inglés de line probe assay), que en el período de vigencia de la actualización del manual se pretende implementar en el LSSNDD.

Los distintos tipos de laboratorio tendrán a su disposición sólo la versión que aplique a su nivel de complejidad técnica lo que significará mayor optimización de recursos y mayor operatividad en su utilización.

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ATM	atmósferas
BK	Baciloscopía
BK+	Baciloscopía positiva
CSB	Cabina de seguridad biológica
CT	Control de tratamiento
EPP	Elementos de protección personal
GLI	Iniciativa global de laboratorio (Global laboratory initiative)
LBA	Lavado broncoalveolar
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LI	Laboratorios intermedios
LJ	Lowenstein Jensen
LNSPDD	Laboratorio Nacional de Salud Pública Dr. Defilló
LP	Laboratorios periféricos
LR	Laboratorios regionales
MA	Micobacterias ambientales
MF	Microscopía de fluorescencia
MP	Método de las proporciones
OMS	Organización Mundial de la Salud

- ✓ integración de algoritmos de diagnóstico en los planes de fortalecimiento de laboratorio.

Para que un laboratorio de diagnóstico de TB funcione eficazmente, es crucial que disponga de personal motivado y dedicado. El personal de laboratorio debe ser plenamente consciente de la importancia de su cometido en el sistema de salud y en el control de la TB y debe asociarse de pleno derecho al PCT. La capacitación y actualización permanente de los técnicos de laboratorio en el diagnóstico de TB es una actividad esencial.

En general, el personal de la red de laboratorios es generalista, es decir, desarrolla otras actividades técnicas de laboratorio, además de las relacionadas con la TB. Sin embargo, a nivel central y regional es conveniente disponer de personal técnico o profesional específicamente dedicado a la TB, principalmente por las condiciones particulares de bioseguridad.

En la red de laboratorios de TB, el sistema de gestión de calidad tiene como objetivo mantener y optimizar la calidad de todas las acciones efectuadas por los laboratorios que la constituyen e incluso las efectuadas por otros servicios del PCT, que atañen a la calidad de la atención tanto a nivel de cada paciente de TB como de la comunidad expuesta a sufrir infecciones.

La calidad de los servicios depende de la aplicación de las buenas prácticas de laboratorio; se previenen los errores describiendo los procedimientos y controles internos que minimizan la probabilidad de producir falsos resultados o rendimiento por debajo del óptimo de los métodos bacteriológicos; la observación (control externo) de las actividades permite identificar los errores más frecuentes y a través del análisis de sus causas, sistematizar las medidas preventivas.

Todos los anteriormente expresados, constituyen elementos de un sistema de gestión de la calidad de la Bacteriología de la TB que fortalecerá de manera transversal la respuesta a la demanda de pruebas diagnósticas acorde con el incremento en la detección de casos de TB.

Este manual ofrece una guía actualizada dirigida a los profesionales de laboratorios para el desarrollo de su trabajo, con la finalidad de que el diagnóstico de los pacientes sospechosos de TB se realice de acuerdo con normas nacionales estandarizadas y vigentes con un sistema de mejora continua de la calidad de los procedimientos y también velando por una bioseguridad adecuada. En esta nueva versión, se han incorporado nuevas técnicas que han sido introducidas en la red de laboratorios que han permitido contar con herramientas rápidas que garanticen un diagnóstico oportuno de los casos de TB.

Las técnicas bacteriológicas que están siendo utilizadas son las recomendadas por la Red Supranacional de Laboratorios de la OPS para los países de la Región. La utilización de estas permite la obtención de resultados comparables a nivel nacional e internacional, facilitando la capacitación, supervisión y evaluación de los procedimientos.

✓ normas nacionales uniformes para métodos, procedimientos y técnicas de laboratorio de bacteriología de la TB (POEs = procesos operativos estandarizados);
✓ descentralización ejecutiva hasta los niveles de diagnóstico menos complejos;
✓ garantía de calidad eficaz;
✓ integración de los diversos niveles de diagnóstico, para facilitar el acceso del nivel menos complejo a los servicios más complejos, y comunicación recíproca entre ellos.

Esta ***RED DE LABORATORIOS*** consiste en una estructura en la cual varios laboratorios, que trabajan en diferentes niveles de complejidad de servicio, están solidariamente vinculados para lograr los objetivos comunes del PCT. Este interés compartido, se concreta en un conjunto común de normas, sistemas de información, materiales (suministros) y servicios ofrecidos con garantía de calidad.

A su vez, la red es necesaria para suministrar la información requerida para planificar, vigilar y evaluar las actividades del PCT a todos los niveles.

En vista de esta diversidad de actividades se han establecido perfiles técnicos para cada nivel de complejidad de los laboratorios:

✓ Laboratorios de atención primaria (nivel periférico, local);
✓ Laboratorios moderadamente complejos (nivel intermedio, provincial o regional);
✓ Laboratorio de referencia nacional (nivel central).

Los tres niveles descritos no trabajan en forma aislada, sino que deben desempeñarse coordinadamente para que su trabajo sea eficaz, de modo que, si un problema técnico no puede resolverse a un nivel, se remita al nivel de mayor complejidad. Esto establece que los laboratorios de los tres niveles técnicos desarrollen además tareas organizativas propias de cada nivel. Estas actividades organizativas básicas en las que participan coordinadamente los tres niveles son: organización y coordinación de la red, planificación y evaluación, normatización, capacitación, gestión de calidad, gestión de recursos e información. Si bien todos los niveles están involucrados en todas las actividades, cada uno tiene funciones particulares.

Funciones de nivel central: Laboratorio Nacional de Referencia

✓ Evaluación de los recursos del sistema de salud: debe conocer el recurso actual real de la capacidad de diagnóstico del país, en lo referente a tipos de laboratorios, nivel de complejidad, ubicación geográfica, accesibilidad, cobertura, condiciones de bioseguridad, equipos y personal (cobertura efectiva del diagnóstico) y dependencia.
✓ Organización y Coordinación: define el perfil, la organización inicial y la función de la red, con los responsables de programas de laboratorios y vigilancia epidemiológica en base a las patologías prevalentes en cada comunidad atendida y determina las relaciones entre los laboratorios de los diferentes niveles.

✓ Mantener la existencia de suficientes suministros para la red, según corresponda (compra centralizada) y distribuirlas en cantidades apropiadas en el momento propicio, en función de las metas del programa en coordinación con el LNR.
✓ Monitorear y evaluar las actividades de su sección de la red, junto con los laboratorios periféricos. Esto forma parte de la evaluación de las actividades del PCT en la región.

Funciones de laboratorios de nivel local

Estos laboratorios están generalmente ubicados en centros de segundo y primer nivel de atención. Constituyen el nivel básico de la red y en ellos se realizan baciloscopías para detectar, entre los SR identificados, los casos de TBP+, junto con otros métodos sencillos de detección y diagnóstico de otras enfermedades prevalentes.

La información generada a este nivel indica tanto la situación epidemiológica de la comunidad correspondiente, como el progreso de las actividades del PCT. También determina la necesidad de proyectos de investigación aplicada u operativa.

En los laboratorios periféricos pueden establecerse "subniveles" según sea necesario para mejorar la funcionalidad de la red. En tales casos, puede haber un laboratorio distrital y un laboratorio periférico e incluso centros de toma de muestras en unidades muy periféricas.

Todos los laboratorios deben:

✓ Ejecutar bajo normas las técnicas y procedimientos del PCT.
✓ Mantener comunicación fluida y permanente con el resto del equipo de salud (recolección de muestras adecuadas, entrega oportuna de informes, compartir la responsabilidad de que los enfermos diagnosticados por BK sean puestos en tratamiento, solicitar las muestras para control de este cuando no lleguen).
✓ Realizar el control de calidad interno de las técnicas.
✓ Informar al nivel intermedio de sus necesidades de suministros.
✓ Llevar el registro de laboratorio de TB establecido y hacer llegar el informe resumido del registro de laboratorio de TB al nivel intermedio correspondiente.
✓ Poner en práctica las recomendaciones emanadas de los informes del control de calidad de la BK de esputo.

entienda. La palabra que define la buena muestra es diferente en cada región y en general el SR o PTB la identifica perfectamente (catarro).

Para la obtención espontánea considerar lo siguiente:

✓ Elegir un lugar adecuado para que el SR produzca la expectoración: por ejemplo, una caseta bien ventilada y con mucho sol (si se dispone de ella) o un lugar abierto que permita intimidad, tal como un espacio no concurrido del patio del servicio de salud. No utilice lugares cerrados o muy concurridos tales como laboratorios, consultorios médicos o baños, porque los núcleos de las gotitas infectantes (o aerosoles) permanecen en el ambiente con bacilos vivos muchas horas.

✓ Entregue al SR o PTB el envase de recolección rotulado con su nombre o número de identificación y el servicio que lo solicita. 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.

✓ Instruya al SR indicándole que debe inspirar profundamente llenando sus pulmones de aire tanto como sea posible, retenerlo un momento y luego expulsarlo violentamente, con un esfuerzo de tos desde el abdomen, tratando de arrastrar las secreciones del pulmón. Debe recoger en el envase el esputo producido tratando de que

✓ Número de muestras: al menos dos. Se recomienda utilizarlo sólo en diagnóstico. El envase aconsejado es el mismo que el del esputo.
✓ Momento de la recolección: por la mañana al despertar, con el paciente en ayunas dado que la ingesta de alimentos hace que la expectoración ingerida pase al intestino. Si es un lactante es conveniente que no esté presente la madre en el momento de la toma de muestra porque su presencia puede estimular los movimientos peristálticos.
✓ Conservación: coloque el material en el frasco adecuado y envíelo inmediatamente al laboratorio, ya que debe ser cultivado en las **4 horas siguientes a su obtención**. Para evitar demoras, la toma de muestra se debe realizar en forma programada. Si por alguna causa inevitable no es posible, debe neutralizarse el material con 1mg de bicarbonato de sodio o de fosfato trisódico anhidro por cada mL de esputo y conservarlo en refrigeración por no más de 24 horas hasta el momento del envío.
✓ Procesamiento: la BK se realiza con el sedimento de la muestra centrifugada previamente durante 30 minutos a 3.000 G, por lo que se recomienda que se realice en el laboratorio que cultivará la muestra.

Obtención por lavado bronquial

La obtención de esta muestra está reservada a médicos especialistas. Siempre debe ser cultivada.
Antes de tomar la muestra deben realizarse, de ser posible, BK de al menos dos muestras espontáneas de esputo para intentar detectar la enfermedad sin procedimientos invasivos, evitar la contaminación innecesaria del fibrobroncoscopio con bacilos, la posible transmisión de TB a través del fibrobroncoscopio contaminado, y la generación de falsos resultados positivos por la presencia de bacilos remanentes, vivos o muertos. El aparato debe esterilizarse mediante lavado con solución de glutaraldehído al 2% (activada menos de 15 días antes), después de la toma de muestra. El personal que realiza las fibrobroncoscopías debe contar con mascarillas N95 de bioseguridad.

Las maniobras utilizadas suelen producir expectoración en las 24 horas posteriores, razón por la que debe entregarse un frasco al paciente para que la enfermera la recoja y la entregue en el laboratorio.
Se deben enviar a cultivo **antes de las 12 horas** de obtenido porque los anestésicos empleados pueden disminuir la viabilidad del bacilo.

Número de muestras y momento de la recolección del esputo

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.

En las condiciones habituales del PCT se considera suficiente obtener dos muestras por SR. La primera muestra detecta aproximadamente el 80% de los casos positivo y la segunda agrega un 15% más.

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 identifica al SR. La segunda muestra la obtiene el paciente en su casa

Muestras extrapulmonares

Todas las muestras que no sean pulmonares deben ser procesadas necesariamente por cultivo: en algunos casos porque la escasa cantidad de bacilos presentes (paucibacilares) sólo podrá ser detectada por esta metodología, en otros, debido a la mayor frecuencia de casos extrapulmonares causados por otras micobacterias y a la posibilidad de contaminación con micobacterias saprófitas de algunas muestras, como es el caso de la orina.

El hecho de que no se observen bacilos alcohol-ácido resistentes (BAAR) en la BK no significa necesariamente ausencia de TB; tampoco la observación de tales bacilos asegura presencia de enfermedad porque puede tratarse de MA.

Orina

Número de muestras: mínimo tres y máximo seis.

✓ Cantidad y momento de recolección: debe recogerse el 2° chorro de la primera micción de la mañana, previa higiene externa con agua, en volumen no inferior a 50 mL.
✓ Envase: de tamaño adecuado (300-500 mL), limpio y de boca suficientemente ancha para posibilitar la recolección directa.
✓ Conservación: **la muestra debe ser procesada inmediatamente**, ya que la orina tiene pH ácido y el pH óptimo de crecimiento de CMTBC es neutro. Si este permanece a un pH inadecuado, disminuye la viabilidad bacilar de la muestra. Si se debe transportar a otro laboratorio, se recomienda enviar el sedimento de la centrifugación total de la orina durante 15 minutos a 3.000 G, neutralizado con 1 mg de bicarbonato de sodio o fosfato trisódico anhidro y conservado en refrigerador por no más de 12 horas hasta el momento del envío.
✓ La orina debe ser cultivada e identificada para realizar el diagnóstico de tuberculosis renal. No corresponde realizarlo por baciloscopía, ya que en esta se eliminan MA saprófitas de paso por el sistema urinario.

Recuerde: las micobacterias ambientales son ubicuas, y de preferencia se encuentran en lechos de agua, por lo que podemos ingerirlas y eliminarlas a través de la orina o deposición, pero están de paso por los sistemas urinario y digestivo.

Líquido cefalorraquídeo

La obtención de este material está reservado a personal médico.

✓ Cantidad y momento de recolección: se tomarán todas las muestras que el médico tratante crea conveniente. A mayor cantidad de muestras procesadas, hay mayor posibilidad de hallazgo de bacilos.

✓ 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, del inglés Brain Heart Infusion) con anticoagulante). Incubar a 37º C hasta el momento del envío al laboratorio.

Conservación y transporte de las muestras

Es necesario que la muestra llegue lo antes posible al laboratorio que va a realizar la BK o el cultivo porque será mayor la posibilidad de encontrar en esta *M. tuberculosis*; la temperatura ambiente y el transcurso del tiempo favorecen la multiplicación de los gérmenes habituales de la boca que desnaturalizan las proteínas, lo que dificultará la elección de la partícula útil y facilitará la destrucción del bacilo.

Las muestras deben ser conservadas de preferencia en refrigeración o, de no ser posible, en un lugar fresco y protegido de la luz. En una unidad de salud que no tiene laboratorio, el personal debe conocer a qué laboratorio debe enviar las muestras, con qué frecuencia y en qué medio de transporte. En general, tanto para BK como para cultivo se recomienda que se envíen por lo menos dos veces por semana.

En el transporte de las muestras deben considerarse tres condiciones importantes:

- ✓ protección del calor excesivo;
- ✓ protección de la luz solar;
- ✓ acomodarla de forma tal que no haya riesgo de derrames.

Es útil contar con un envase de plástico con tapa, del tipo de los que se utilizan para conservar alimentos, de altura ligeramente superior a la de los envases utilizados, en cuyo interior se adapta una base de fon agujereada con círculos de diámetro ligeramente superior al de los envases, para conservar allí las muestras en el refrigerador o bien para su transporte. Estos envases son fácilmente descontaminados por lavado con solución de hipoclorito de sodio al 0,5-2%. Si no se dispone de cajas de plástico con divisiones interiores para el transporte, las muestras pueden ser acondicionadas en cajas de cartón grueso, madera o metal; se debe comprobar que los envases estén cerrados herméticamente (en algunos casos conviene sellarlos con cinta adhesiva), luego de lo cual se deben envolver en fundas plásticas, haciendo un nudo seguro con cada funda, de manera que sujete firmemente cada frasco en el interior de la funda. Acondicionar los frascos así envueltos en la caja con relleno de papel absorbente o de periódico para mantenerlos firmes. Este acondicionamiento es apto para el envío de muestras entre servicios de salud cercanos realizado por personal de los mismos servicios.

Cada envío debe ser acompañado por la **Solicitud de Bacteriología** (Anexo 4) correspondiente, debe especificar si es muestra para diagnóstico (1ª o 2ª) o **para CT indicando el mes correspondiente.** Estos formularios **deben estar en un sobre, separado de los envases con muestras.**

Se debe verificar 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 del centro de salud que lo envía.

CAPÍTULO 3: LA BACILOSCOPÍA

A. Tinción Ziehl Neelsen

Fundamento

El examen microscópico directo o baciloscopía es la técnica básica para el diagnóstico y el control del tratamiento de la TB pulmonar del adulto. Para que esta técnica resulte positiva se requiere que la muestra contenga entre 5.000 y 10.000 bacilos por mililitro de esputo (sensibilidad analítica).

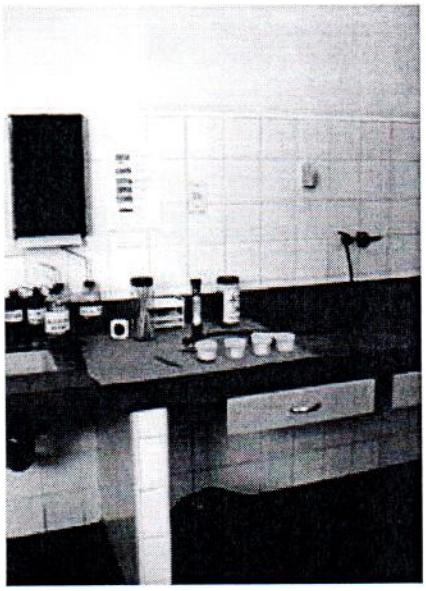
Este alto contenido de bacilos se encuentra en los pacientes con TB pulmonar, especialmente en aquellos cuya lesión es severa con cavitación. La BK no es específica para *M. tuberculosis*, sino que revela la presencia de bacilos de cualquiera otra micobacteria perteneciente al género *Mycobacterium*, sean del complejo tuberculosis o micobacterias ambientales, que solo en determinadas condiciones pueden causar enfermedad.

Los PCT tienen como objetivo principal cortar la cadena de transmisión, diagnosticando tempranamente los casos infecciosos (BK+) y tratándolos con esquemas eficaces y modalidades que aseguren una curación cercana al 100%.

La BK es la técnica que mejor se adapta a las necesidades de los PCT ya que detecta los casos con mayor número de bacilos en sus lesiones, por lo tanto, con TB más severas y que transmiten el bacilo a otras personas manteniendo la enfermedad en la comunidad. Además, es sencilla: puede realizarse en cualquier laboratorio que cuente con un microscopio, es económica y puede ser fácilmente estandarizada para garantizar la calidad en todos los laboratorios.

La estandarización se basa en normas técnicas que son el producto de amplios ensayos mundiales realizados por organizaciones internacionales como la OPS/OMS y UNION.

La técnica se basa en la capacidad que poseen casi exclusivamente las micobacterias de incorporar la fucsina fenicada u otros colorantes fenicados y retenerlos frente a la acción de decolorantes como la mezcla de alcohol y ácido: **alcohol-ácido resistencia**. Esta propiedad se debe al alto contenido en lípidos, principalmente ácidos micólicos, que poseen las micobacterias en la pared celular.

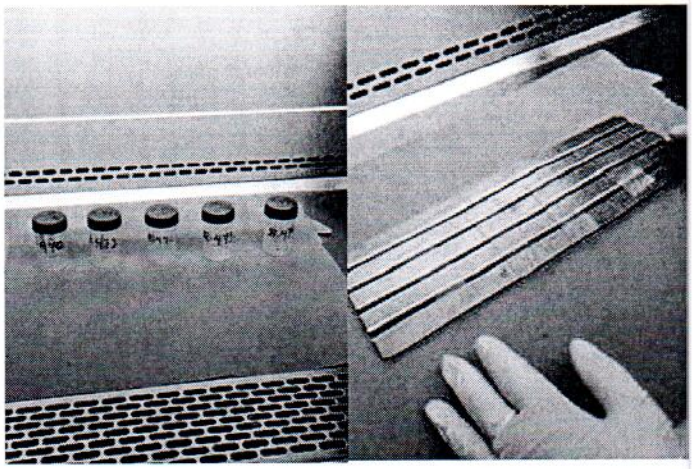


Se debe contar con:

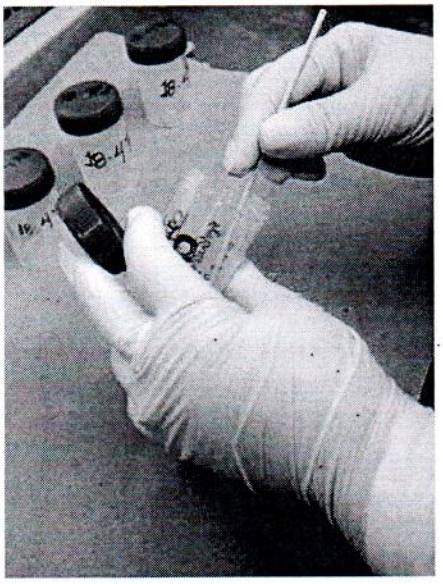
✓ Una meseta para colocar las muestras que se reciban y realizar los extendidos de aproximadamente 1 x 0,50 m, que pueda desinfectarse fácilmente con soluciones germicidas (marmolite o acero inoxidable).
✓ Se debe disponer también de una bandeja de metal y cubrirla con papel impregnado en hipoclorito de sodio al 0,5%.
✓ Un fregadero con agua corriente en el que se pueda lavar las manos y que pueda ser utilizado para la tinción.
✓ Un gabinete o armario para los reactivos, portaobjetos y demás materiales.
✓ Una mesa para situar el microscopio, protegido de la humedad.
✓ Un escritorio para registrar los informes y los datos en el libro de bacteriología y para almacenar las láminas para envío a control de calidad.

El equipo y los materiales mínimos necesarios para realizar las BK son:

✓ microscopio con objetivo de inmersión en buenas condiciones.
✓ envases para muestras.
✓ aplicadores de madera (o en su defecto asas de preferencia desechables).
✓ portaobjetos (deben ser nuevos y ser limpiados con alcohol y secados cuidadosamente al aire).
✓ frascos para soluciones colorantes.
✓ varillas de vidrio para soporte de tinción.
✓ mechero preferiblemente de gas, aunque puede utilizarse uno de alcohol.
✓ lápiz de grafito.
✓ papel de filtro.
✓ papel para limpieza de lentes.

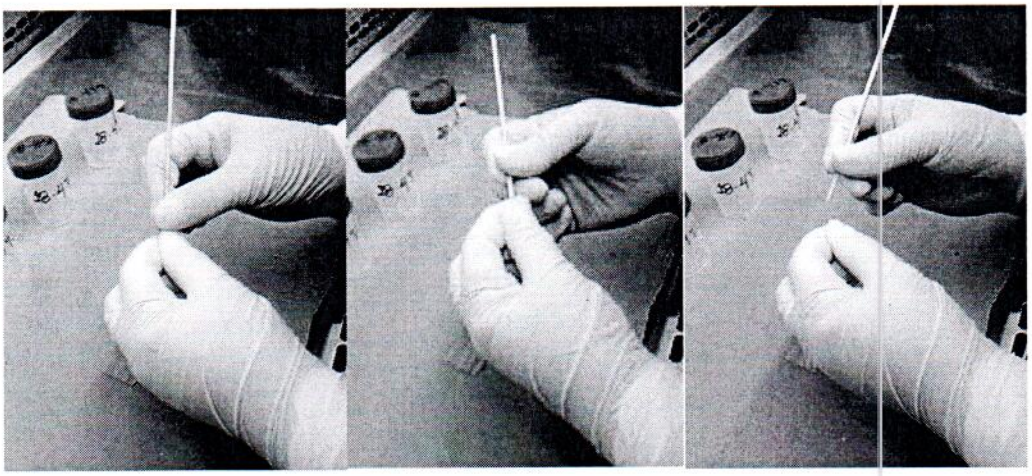


Los resultados de la baciloscopía dependen fundamentalmente de la selección de la partícula de la muestra que se extenderá. La posibilidad de encontrar bacilos es máxima en las partículas más purulentas o densas del esputo, denominada partícula útil.

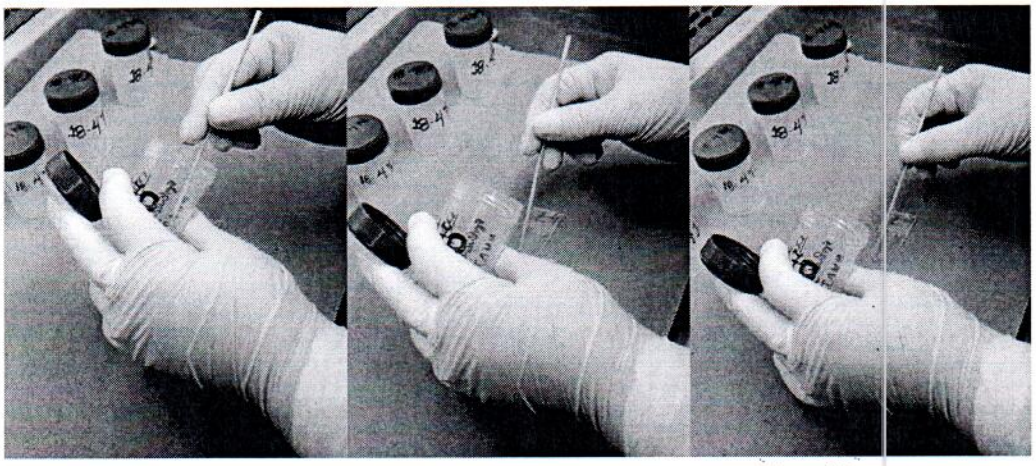


Preparación del extendido

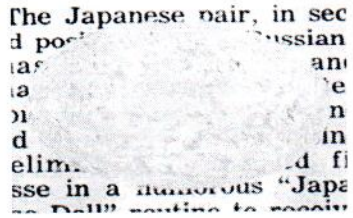
La meseta, la bandeja y la hoja de papel impregnada en descontaminante constituyen el área contaminada porque sobre ella se deben realizar las etapas más peligrosas de todo el procedimiento, desde la apertura del envase y la preparación del extendido hasta el cierre del envase. Antes de comenzar a trabajar, disponga en esta área todo lo necesario para realizar el extendido en el espacio despejado de la misma: mechero, aplicadores, varilla de soporte para los extendidos, lápiz para marcar los portaobjetos, portaobjetos con extremo esmerilado,



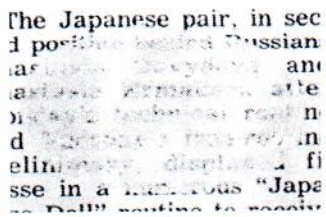
✓ Si la muestra contiene varias porciones mucopurulentas tratar de mezclarlas con movimientos suaves del palillo y luego tomar una porción de la mezcla. Si sólo hay pequeñas partículas purulentas, escoger tres o más de ellas y mezclarlas en el mismo portaobjetos para homogenizarlas.



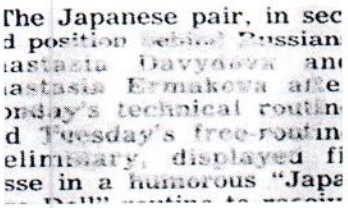
La selección de la partícula más purulenta de la muestra es uno de los pasos más importantes de la baciloscopía.



Extendido grueso

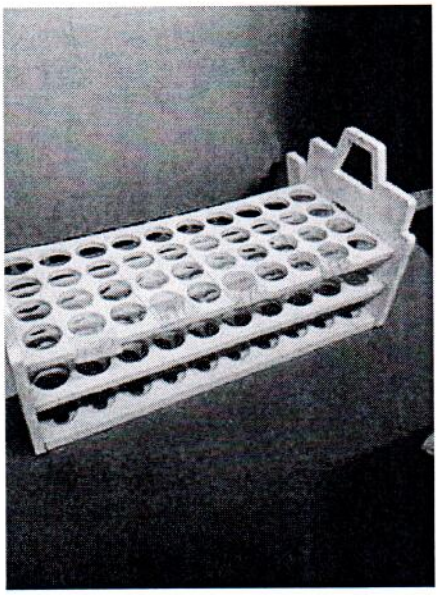


Grosor adecuado



Extendido fino

✓ Dejar el extendido en un soporte para que se seque a temperatura ambiente; aproximadamente 20-30 minutos. El extendido no debe calentarse a la llama mientras éste permanezca húmedo pues el calor fuerte deteriora los bacilos que se colorean mal y además puede generar aerosoles. Ubicar el soporte lejos de sus manos para no contaminarse.



✓ Si utilizó aplicadores deséchelos en un frasco que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%; este frasco irá a la autoclave o directamente a incineración.

✓ Cerrar el envase y déjelo en el lado opuesto a los que aún no ha procesado, para evitar confusiones. Continuar de la misma manera con cada una de las muestras siguientes.

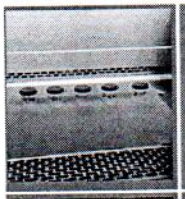
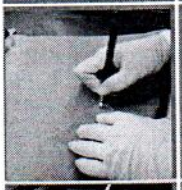
✓ Conservar las muestras hasta que haya realizado las coloraciones y lecturas y esté seguro de que no necesitará realizar nuevos extendidos o enviarlas para cultivo.

✓ Cuando haya terminado, puede desechar las muestras colocándolas, junto con los aplicadores y el papel, en una funda plástica cerrada con un nudo para incineración o autoclavado.

✓ Limpie la superficie de trabajo con papel absorbente, algodón o gasa empapado hipoclorito de sodio al 0,5% sobre la superficie, para desinfectarla. Descarte los guantes, del mismo modo que las muestras.

✓ El material que se descartó en el receptáculo debe ser incinerado o autoclavado al final de cada jornada.

PREPARACIÓN DEL EXTENDIDO

	ORDENAR LAS MUESTRAS
	MARCAR LOS PORTAOBJETOS
	PARTIR EL APLICADOR
	SELECCIONAR LA PARTÍCULA MÁS PURULENTA
	DEPOSITAR EN EL PORTAOBJETOS
	EXTENDER LA MUESTRA UNIFORMEMENTE
	FIJAR EL EXTENDIDO CUANDO ESTÉ TOTALMENTE SECO

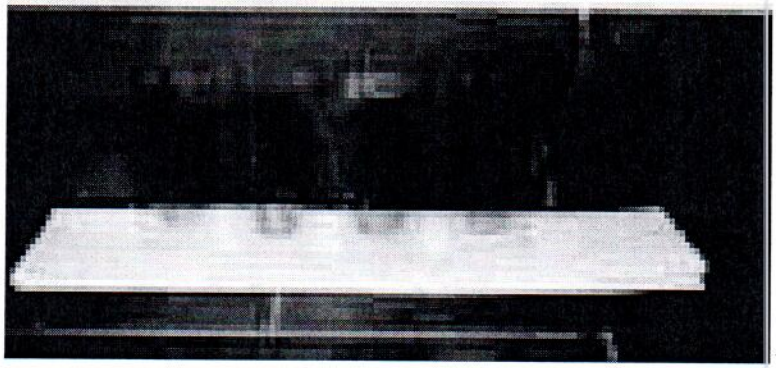
cuidado también la parte posterior. Inclinar el portaobjetos tomándolo con una pinza para eliminar el exceso de agua y evitar diluir los reactivos que se utilizarán a continuación.

Decoloración

✓ Cubrir la totalidad del extendido con solución decolorante de alcohol-ácido y dejar aproximadamente 2 minutos para que el decolorante actúe. Pasado ese tiempo enjuagar con abundante agua a baja presión. Se considera decolorado cuando las partes más gruesas del extendido sólo conservan un leve tinte rosado. Si aún observa coloración rosada intensa, vuelva a cubrir con solución decolorante, déjelo actuar entre uno y dos minutos y enjuagar nuevamente.

Coloración de fondo

✓ Eliminar el exceso de agua inclinando el portaobjetos. Cubrir todo el extendido con solución de azul de metileno dejándolo un minuto. Enjuagar las láminas en ambas caras con agua a baja presión y limpiar la parte inferior con un algodón o papel absorbente si ha quedado coloreada.
✓ A medida que las retire del soporte de coloración, observe si la numeración está aún visible y en caso contrario volver a enumerarlas.
✓ Déjelas secar a temperatura ambiente, apoyándolas en forma vertical sobre un papel absorbente o en un soporte. No las seque con papel absorbente.



Observación microscópica

La observación microscópica cumple principalmente dos objetivos:

1.- Determinar si en el extendido hay bacilos alcohol-ácido resistentes.

2.- En caso positivo, cuantificar aproximadamente la cantidad de bacilos, lo que da una noción del grado de severidad de la enfermedad del paciente.

Ubicar cerca del microscopio todos los elementos que va a necesitar para la lectura: aceite de inmersión, papel suave, el Libro de Registro de Bacteriología y dos bolígrafos (azul y rojo), una caja para guardar portaobjetos, un frasco con alcohol al 70%.

Método de lectura

✓ Después de examinar un campo del microscopio, desplazar el portaobjetos longitudinalmente para poder examinar el campo contiguo de la derecha. Cada campo microscópico debe ser observado en superficie y profundidad, utilizando permanentemente el micrométrico.
✓ Seguir una pauta uniforme de observación, para evitar repetir la lectura de algunos campos, leyendo de izquierda a derecha del extendido y observando al menos 100 campos microscópicos (un largo del portaobjetos) útiles. Para un bioanalista capacitado este procedimiento llevará aproximadamente cinco minutos.
✓ Se considera campo microscópico útil a aquel en el cual se observan elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas, células ciliadas). Los campos en que estos no aparecen no deben contabilizarse en la lectura.

Lectura, interpretación e informe de los resultados

Pautas para la confección del informe de los resultados:

INFORME	NÚMERO DE BACILOS ALCOHOL-ÁCIDO-RESISTENTES
Negativo (-)	No se encuentran BAAR en los 100 campos observados.
Nº exacto de bacilos en 100 campos	Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados.
Positivo (+)	Se observan entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados.
Positivo (++)	Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados.
Positivo (+++)	Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

✓ Registrar inmediatamente el resultado de la lectura en el registro del laboratorio. Es conveniente marcar los resultados positivos con bolígrafo rojo en el registro, para identificarlos más rápidamente.

✓ Escribir el resultado en el formulario correspondiente, agregar toda observación que considere relevante, por ejemplo, indicar, si corresponde, que la calidad de la muestra no fue adecuada.

✓ **Enviar el resultado lo más pronto posible al centro de salud, unidad de enfermería responsable del programa o al médico que solicitó el examen.**

Recuerde: el paciente debe comenzar su tratamiento inmediatamente después de que la muestra resultó positiva.

Lecturas con menos de 4 BAAR en 100 campos leídos

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

- Ampliar la lectura a 200 campos.

Estudios publicados han reportado que la microscopia de fluorescencia es 6% más sensible que la microscopía óptica y un 5% más sensible que la microscopía fluorescente convencional, aunque conserva los mismos niveles de especificidad. Además, otra de las importantes ventajas de la técnica de fluorescencia es que los extendidos pueden ser observados con menor aumento que mediante la coloración de ZN, permitiendo la observación de una mayor área del preparado por unidad de tiempo. La técnica de coloración mediante Auramina O es económica, y el procedimiento es más sencillo que la coloración de ZN.

Bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) con tinción de fluorescencia.

Con la aparición en el mercado de una nueva generación de lámparas, los diodos que emiten luz (Light-Emitting Diodes: LED), se abre un nuevo horizonte para la utilización de la MF. Estas lámparas son baratas de producir, emiten luz en casi cualquier longitud de onda y tienen una vida media de alrededor de 20.000-30.000 horas.

Otra de las ventajas que presenta es que no se requiere de un cuarto oscuro para su observación y cualquier microscopio óptico de los que actualmente se comercializan de luz LED puede ser adaptado con la incorporación de un dispositivo fluorescente. Esta técnica se recomienda para aquellos laboratorios con alta carga de trabajo, es decir, que cada técnico deba leer más de 25 baciloscopias por jornada laboral.

Desde hace 7 años (2011), la Red de Laboratorios de Tuberculosis de República Dominicana, incorporó la microscopía por fluorescencia LED y actualmente cuenta con 14 Laboratorios entre regionales e intermedios (aquellos que tenían mayor carga de trabajo) validados para la realización de microscopía de fluorescencia LED. Los colorantes son adquiridos mediante la compra de kits que contienen los dos reactivos fundamentales: Auramina O y Solución Decolorante.

- ✓ Lápiz de mina para identificación.
- ✓ Pipetas tipo Pasteur.

Reactivos

- ✓ Auramina O.
- ✓ Permanganato de potasio.
- ✓ Alcohol de 95°.
- ✓ Ácido clorhídrico al 37%.

Procedimiento

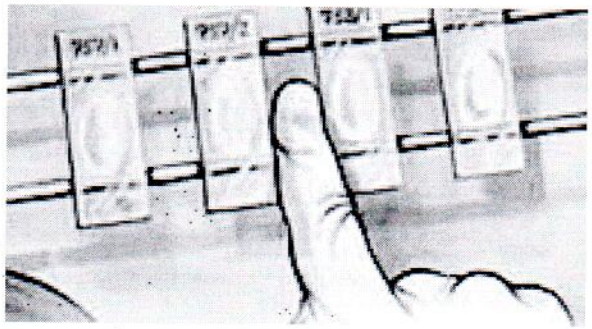
Extendido y fijación.

Se realiza el extendido y fijación de las muestras de acuerdo a lo descrito en el punto A. de este capítulo, Tinción de Ziehl Neelsen.

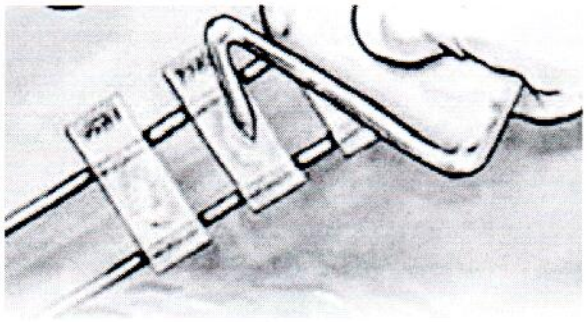
Tinción

La tinción se realiza como se describe a continuación:

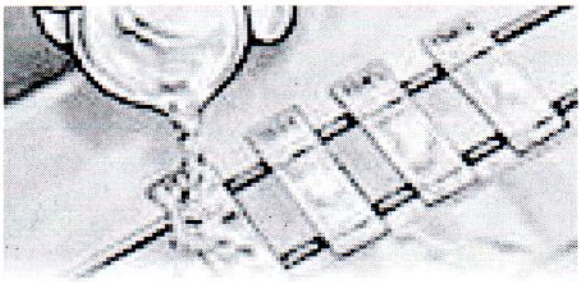
✓ Colocar los portaobjetos en un soporte de coloración, manteniendo distancia (1 cm) entre porta y porta, como lo muestras la siguiente figura:



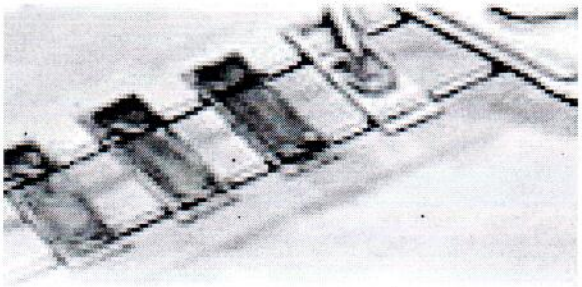
✓ Cubrir los extendidos con la solución decolorante. Dejar actuar tres minutos.

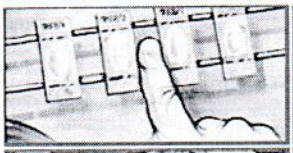
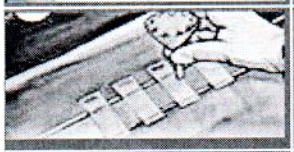
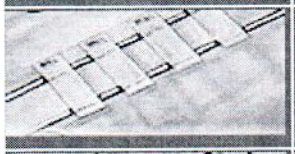
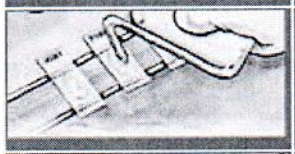
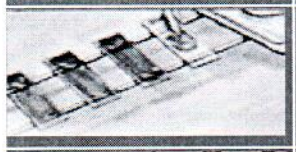
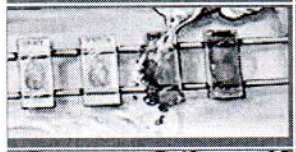


✓ Lavar los extendidos con agua destilada o agua corriente hasta que todo el colorante haya sido removido.



✓ Cubrir los extendidos con permanganato de potasio o azul de metileno durante un minuto.



TINCIÓN CON AURAMINA O	
	COLOCAR LOS FROTIS EN UN SOPORTE A UN CM DE DISTANCIA APROXIMADAMENTE
	CUBRIR CON AURAMINA O
	DEJAR ACTUAR AL MENOS 20 MINUTOS
	LAVAR CON AGUA
	CUBRIR CON DECOLORANTE POR 3 MINUTOS
	LAVAR CON AGUA
	CUBRIR CON AZUL DE METILENO DURANTE 1 A 2 MINUTOS
	LAVAR CON AGUA
	ESCURRIR Y SECAR AL AIRE

s importante destacar que las láminas en las que el microscopista presente dudas al momento de realizar la lectura deben ser reteñidas con la tinción de Ziehl Neelsen. En estos casos, confirmar o descartar la positividad observando con microscopio óptico con aumento de 100 X y siguiendo el método de lectura de Ziehl Neelsen. Si es necesario, leer más de 100 campos.

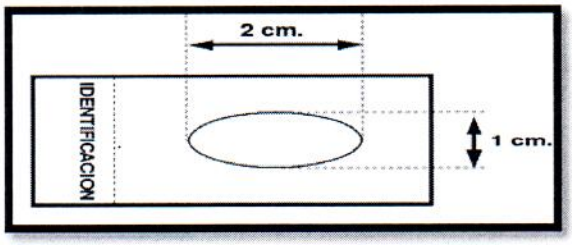
Interpretación e informe de resultados

Desde el año 2009 la OMS ha trabajado en estudios que avalan dos cambios importantes en la técnica de fluorescencia, y el 2011 publica una guía con dos propuestas importantes:

1. La primera es que la microscopia de fluorescencia convencional con lámpara de mercurio sea reemplazada por microscopia LED, que es una energía más segura, ya que no presenta riesgo de exposición a mercurio, la vida útil es de 20.000 a 30.000 horas en comparación a las 200 a 300 horas de vida útil de la lámpara de mercurio, es más económica, su mantención es menos complicada y no requiere de un cuarto oscuro ni emite luz ultravioleta.

2. La segunda es sugerir que no se realice la retinción de las láminas positivas por fluorescencia con tinción de Ziehl Neelsen, ya que una serie de estudios avalan que esta tinción es considerablemente más sensible que la de ZN y similares en especificidad, por lo tanto, la retinción no sería necesaria ni aportaría en el diagnóstico de la tuberculosis.

La nueva pauta de informe de baciloscopia con tinción fluorescente se basa en muestras concentradas, pero sin centrifugación previa, sino distribuidas en un ovalo de 2x1 cm, como lo muestra el siguiente modelo.



- ✓ la evaluación de materiales, equipos, reactivos
- ✓ el desempeño del personal.
- ✓ los procedimientos.
- ✓ la precisión y oportunidad de los informes.
- ✓ la oferta y aplicación adecuada de la baciloscopia.
- ✓ el rendimiento de la baciloscopia para detectar casos.
- ✓ el seguimiento de los resultados de los controles de calidad.
- ✓ las medidas correctivas a aplicar cuando la imprecisión del resultado excede los límites considerados aceptables o se producen demoras evitables.

Control de colorantes y microscopios:

Material

Se pueden adquirir láminas de control comerciales o prepararlas en el laboratorio con muestras de expectoración positiva de acuerdo a lo siguiente:

- ✓ Las muestras de esputo positivas se deben tratar con 10 gotas de fenol al 5% o hipoclorito de sodio al 2% durante media hora.
- ✓ Realizar la mayor cantidad posible de extendidos, para que puedan ser utilizados durante dos meses. Si no se reciben suficientes muestras positivas, solicitar los extendidos al laboratorio de referencia.
- ✓ Estos deben ser guardados en cajas adecuadas, con separaciones diseñadas para guardar extendidos, o dentro de una caja envueltas en papel suave, bien acondicionados, en lugar seco, e identificadas como "Extendidos para CCI".

Procedimiento

Realizar el procesamiento de los controles junto con las muestras y **leer en ciego.**

Tipos de CCI de la lectura:

Rechequeo de frotis Intra-microscopista: lectura de un frotis en duplicado, en ciego, por un lector y diariamente.

• Si se realizan más de 10 baciloscopias por día, se debe repetir el control arriba descrito (coloración de un extendido positivo y uno negativo) una vez por semana. Si se realizan menos de 10 baciloscopias por día se deben incluir los frotis positivo y negativo como control diariamente.

Causas del error en la microscopía

Relacionadas con la muestra

- ✓ Una calidad o volumen de muestra inadecuados.
- ✓ No tomar la partícula útil
- ✓ Un descuido al rotular el envase. La rotulación debe hacerse en el envase propiamente tal y no en la tapa.

Relacionadas con la preparación del frotis

- ✓ Una superficie de trabajo insuficiente o mal iluminada.
- ✓ Una confusión de los portaobjetos.
- ✓ La preparación de lotes demasiado numerosos. Se recomienda un máximo de 12.
- ✓ El uso de portaobjetos utilizados previamente con muestras positivas. Éstos deben descartarse.
- ✓ La contaminación de las muestras por descuidos en la utilización de las asas, las pipetas o los palillos de madera.

Relacionadas con la tinción

- ✓ El uso de portaobjetos rayados en los cuales los depósitos de colorante pueden confundirse con los bacilos.
- ✓ El uso de fucsina sin filtrar, que puede contener cristales.
- ✓ Los descuidos al calentar la fucsina, dejando que se seque y cristalice en el frotis o hierva.
- ✓ La decoloración inadecuada del frotis, que puede dejar una mancha roja en los bacilos saprófitos que luego parecen acidorresistentes.

Relacionadas con el examen microscópico

- ✓ No verificar el número que figura en el portaobjetos y no volver a rotularlo si el número se oscurece durante la tinción. Esto puede llevar a sustituir un frotis por otro.
- ✓ No limpiar la lente de inmersión con papel absorbente después de cada examen, especialmente después de examinar un frotis positivo.
- ✓ La presencia de bacilos en el aceite de inmersión. Esto puede ocurrir si se toca el frotis con la boca de la botella. Debe utilizarse un frasco cuentagotas y dejar caer la gota evitando cualquier contacto entre el frasco y el portaobjetos.

En el caso en que detecten anormalidades y no puedan ser identificadas las causas, consultar al laboratorio de referencia.

Sistema de registro e información

El sistema de información epidemiológica y operacional debe ayudar a administrar mejor la Red de Laboratorios de Tuberculosis a todos los niveles. Éste debe permitir el conocimiento actualizado de la magnitud y tendencia de la situación epidemiológica y al mismo tiempo el grado de desarrollo, utilización y eficiencia de la Red de Laboratorios.

La Red debe contar con la Solicitud de bacteriología de TB (Anexo 4) y el Reporte de pruebas bacteriológicas de TB (Anexo 5).

CAPITULO 4. SISTEMA DE GESTION DE CALIDAD EN LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS

Toda actividad del Programa de Control de Tuberculosis (PCT) debe tener tres características: cobertura, permanencia y calidad y éstas se logran sólo si las actividades se integran en los servicios generales de salud en forma organizada.

Los objetivos de todo PCT son la detección de por lo menos el 90% de los casos bacilíferos en la comunidad y la curación de por lo menos el 90% de los mismos. Por lo tanto, una red de laboratorios de tuberculosis que brinde diagnósticos con un alto grado de calidad es fundamental para el control de la enfermedad.

La calidad es la idoneidad de un producto o un servicio para satisfacer las necesidades expresas e implícitas del usuario.

Según OMS la calidad está destinada a obtener:

- Alto nivel de excelencia.
- Uso eficiente de recursos disponibles.
- Mínimo riesgo para el paciente y el personal de salud.
- Alto grado de satisfacción del paciente.
- Impacto final en salud.

En la Red de Laboratorios de Tuberculosis, el Sistema de Gestión de Calidad tiene como objetivo mantener y optimizar la calidad de todas las acciones efectuadas por los laboratorios que la constituyen e incluso las efectuadas por otros servicios del PCT que afectan la calidad de la atención tanto a nivel de cada paciente de tuberculosis como de la comunidad que está expuesta a sufrir infecciones.

La calidad en el laboratorio no es resultado sólo de factores técnicos (idoneidad, buenos reactivos, métodos y equipos precisos, normatización, buen criterio para la aplicación de métodos e interpretación de resultados), sino también de factores administrativos (organización, sistematización de procedimientos, disponibilidad de suministros, mantenimiento de equipos). El Sistema de Gestión de Calidad actúa directa o indirectamente sobre todos los factores que inciden en la calidad. Sus elementos constitutivos son:

- ✓ Política de calidad: definición de las actividades tendientes a mejorar la calidad;
- ✓ Estimulación a los laboratoristas a una actitud responsable frente al trabajo;
- ✓ Educación en normas técnicas y operacionales;
- ✓ Desarrollo de un Programa de Garantía de Calidad.

Sin las actividades del sistema de calidad, disminuyen paulatinamente:

- la calidad, magnitud e impacto de las actividades
- la calidad de la información epidemiológica

El éxito de este Sistema se basa en la aceptación por los integrantes del equipo de salud de su responsabilidad frente a la comunidad y en el sostén en el tiempo de esta motivación.

EL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD

Es, básicamente, un proceso educativo y motivador destinado a mantener y optimizar la calidad técnica y operativa que resulta, finalmente, en mayor eficacia para asistir al paciente con tuberculosis y para controlar la patología.

- Seguridad en los laboratorios: Guías de flujo de trabajo apropiadas para la seguridad del personal y del medio ambiente.
- Procesos de mejora de calidad: Revisión de la planificación basada en la información recolectada de los servicios y de satisfacción de los pacientes.

Programa de Garantía de Calidad

La Garantía de Calidad es la parte de la Gestión orientada a proporcionar confianza en que se cumplirán los requisitos de calidad. El Programa de Garantía de Calidad tiene como objetivo mejorar la confiabilidad y eficiencia de los laboratorios en una Red de Laboratorios de Tuberculosis.

La calidad de los servicios depende de la aplicación de las buenas prácticas de laboratorio; se previenen los errores describiendo los procedimientos y controles internos que minimizan la probabilidad de producir falsos resultados o rendimiento por debajo del óptimo de los métodos bacteriológicos; la observación (control externo) de las actividades permite identificar los errores más frecuentes y, a través del análisis de sus causas, sistematizar las medidas preventivas.

El establecer un Programa de Garantía de Calidad requiere una secuencia de actividades planificadas: capacitación, prevención de errores, evaluación de la situación e identificación de los errores a corregir en forma prioritaria, búsqueda de soluciones creativas a estos problemas para evitar su ocurrencia, establecimiento de un programa de reentrenamiento y soporte técnico diseñado para corregir esos errores, medición del impacto del Programa y re- planificación. Los resultados de cada secuencia de actividades orientarán el diseño de un nuevo ciclo. Es, por lo tanto, un proceso repetitivo.

El resultado de una evaluación puntual dice en general, muy poco. Puede ser sólo reflejo de un acierto o un error fortuito, de un momento de organización o desorganización del laboratorio, del buen funcionamiento o desperfecto transitorio de un equipo. Expresa tanto como el resultado de un examen de un estudiante; mucho más significativos son el promedio y evolución de resultados a lo largo de su carrera.

De la misma forma, el Programa de Garantía de Calidad debe producir resultados periódicos que permitan evaluar la tendencia a lo largo del tiempo de los parámetros que califican la calidad de trabajo y que conducen a la MEJORA DE LA CALIDAD.

Control de calidad interno

Tiene como objetivo la prevención de errores, es decir evitar y/o corregir de inmediato errores individuales cometidos con muestras de pacientes. Está basado en las buenas prácticas de laboratorio, utilización de los métodos más apropiados, buen funcionamiento de los equipos y buena calidad de los insumos.

El Control de Calidad Interno consiste en un monitoreo sistemático de los procedimientos técnicos desde la toma de muestras hasta la elaboración del informe, prácticas de trabajo, equipos, materiales y resultados producidos por un laboratorio de acuerdo a las normas. El responsable del laboratorio debe establecer en la rutina de trabajo un sistema de controles regulares y el registro de los resultados que arrojan los controles, reservándose para sí mismo la revisión periódica de puntos críticos y el monitoreo de resultados. Están incorporados a cada procedimiento operativo estándar (POE). Debe incluir también las medidas correctivas a aplicar cuando la imprecisión del resultado excede los límites considerados aceptables.

Es responsabilidad de cada uno de los laboratorios que ejecutan una técnica.

Control de calidad externo

Su objetivo es la identificación de laboratorios con fallas técnicas u operativas y de las causas de esas fallas. Esto debe ser seguido por un plan de soporte técnico diseñado en particular para cada uno de esos laboratorios según sea el caso, y la implementación de ese plan que puede incluir readiestramiento, mejoras de los equipos, suministro de insumos, recepción de muestras que debiera procesar ese laboratorio con problemas hasta que los solucione, etc.

Es responsabilidad de todos los laboratorios participar en él y debe ser conducido por los laboratorios de referencia intermedio, regional y nacional.

El Control de Calidad Externo puede ser realizado por dos métodos: Directo e Indirecto y puede ejercerse sobre aspectos técnicos y operacionales.

Rol de los laboratorios de referencia nacional de tuberculosis en el sistema de gestión de la calidad

Sistema de gestión de calidad en la red nacional de laboratorios

El jefe de la Red Nacional tiene la responsabilidad gerencial de la Red, y por lo tanto es responsable de la política de calidad que la Red a su cargo implementará. Sus acciones se pueden resumir de la siguiente forma:

Definición de los objetivos de calidad

Ejemplos.: mejorar la calidad de las baciloscopías en los servicios de salud con mayor carga de trabajo; o en los que no alcanzaron el nivel mínimo requerido; o en los servicios recientemente incorporados; mantener la calidad lograda en el año anterior, etc.

Estrategias a seguir:

Ejemplos: Educación; aumento de la planta de personal, arreglo o reemplazo de equipos de laboratorios no adecuados; etc.

Actividades

- Validación y verificación de técnicas: la actualización de cada una de las técnicas que se aplicarán en la Red debe ser precedida por un estudio técnico que la valide o verifique en el o los laboratorios de referencia.
- Establecimiento de normas técnicas y operacionales: las buenas prácticas de laboratorio requieren la utilización de los métodos más apropiados.
- Capacitación del personal: el cumplimiento estricto de las normas técnicas y operacionales conduce a las buenas prácticas de laboratorio. Se debe planificar la capacitación del personal de acuerdo a los antecedentes del desempeño del laboratorio, a los cambios de personal y a los eventuales cambios de normas técnicas y/u operacionales.
- Adquisición, instalación, inventario, calibración y mantenimiento de equipos y materiales, con Normas Operacionales escritas para mantenimiento de equipos. Conservación de informes de servicios y de mantenimiento de microscopios y de otros equipos.

Control de calidad externo

Es responsabilidad del jefe de la Red de Laboratorios:

- Diseñar el Programa de Control de Calidad Externo, decidiendo las modalidades a emplear.
- Organizar la Red distribuyendo responsabilidades sobre las actividades de control a los diferentes laboratorios según su nivel.
- Capacitar a los supervisores.
- Evaluar a los supervisores.
- Realizar un seguimiento de la calidad de los laboratorios.
- Organizar la recepción de muestras que debiera procesar el laboratorio con problemas hasta que se solucionen.
- Obtener los recursos necesarios para el cumplimiento de las medidas correctivas, incluidos la reparación o los reemplazos de equipos, el reentrenamiento del personal o la abogacía para el nombramiento de nuevo personal y el desvío de muestras hacia otros laboratorios cuando alguno no alcanzó la calidad mínima aceptable.
- Evaluar el cumplimiento del Programa.

Control de calidad externo directo o supervisión directa

Es responsabilidad del jefe de la Red de Laboratorios:

- Priorizar los laboratorios a visitar y elaborar el cronograma de visitas.
- Obtener los recursos necesarios.
- Capacitar a los supervisores.
- Dar respuestas a los problemas encontrados.

Pueden realizarse varios tipos de visitas a terreno como parte de un proceso permanente de garantía de calidad externa, según los recursos disponibles y la capacidad de desempeño del laboratorio que se visita.

- Como parte de la estrategia DOTS para el control de la TB: se requiere una visita trimestral al laboratorio por un supervisor distrital de laboratorios.
- Actividad regular y periódica: se recomienda, al menos, una visita anual por un técnico experimentado.
- Cuando se han observado discrepancias o deficiencias técnicas reiteradas en un laboratorio a través de la supervisión indirecta técnica: es necesaria una visita de personal calificado de un laboratorio de nivel superior (intermedio o de referencia) para realizar una evaluación integral de los procedimientos de laboratorio, aconsejar medidas correctivas e impartir capacitación, si es necesario.

Control de calidad externo indirecto o supervisión indirecta técnica

Es responsabilidad del jefe de la Red de Laboratorios:

- ✓ Establecer qué metodología de Control de Calidad Externo se utilizará en cada laboratorio.
- ✓ Distribuir responsabilidades a los laboratorios intermedios que realizan la relectura de láminas.
- ✓ Entrenar a los supervisores de baciloscopías y supervisar la calidad técnica de las relecturas.
- ✓ Supervisar las actividades de Control de Calidad Externo de los laboratorios intermedios (N° de laboratorios supervisados, N° de baciloscopías releídas, precisión de los informes realizados y de las recomendaciones).
- ✓ Preparar los paneles de baciloscopías para las Pruebas de Eficiencia (centro-periferia) si se utilizara esta modalidad.
- ✓ Analizar los errores encontrados y buscar soluciones creativas.
- ✓ Implementar las medidas adecuadas para mejorar la calidad.
- ✓ Abogar por la disponibilidad de equipos con adecuada calidad.
- ✓ Planificar las actividades del próximo período tomando en cuenta los resultados del Control de Calidad Externo.

La evaluación de la calidad técnica puede realizarse mediante varias alternativas:

Relectura de láminas de rutina enviadas desde el laboratorio efector al laboratorio de referencia (periferia – centro)

El método es sencillo y permite evaluar la calidad de la lectura cualitativa y cuantitativa, pero también indirectamente la calidad de la muestra, extendido, coloración de las láminas efectuadas en los laboratorios en su trabajo rutinario. Por esta razón es la alternativa más utilizada, aunque incrementa la carga de trabajo del laboratorio supervisor.

Envío de láminas preparadas en el laboratorio de referencia para su relectura en el laboratorio efector (centro – periferia)

Evalúa sólo la capacidad de lectura, pero no la preparación de las baciloscopías. Se pueden agregar algunos extendidos sin colorear para evaluar la calidad de la coloración.

La utilización de una de estas modalidades o la combinación de ambas en todos los laboratorios o sólo en algunos de características particulares, debe ser decidida por el referente de la Red.

- Comparación de los porcentajes de errores cometidos por el supervisor por una parte y por los laboratorios supervisados por otra. Para considerar competente a un supervisor, el mismo debe tener menos falsos negativos y menos falsos positivos débiles. Nunca debe tener errores falsos positivos altos.
- Debido a que la reproducibilidad de las lecturas en extendidos con 1 a 9 BAAR en 100 campos es aproximadamente del 50%, el número de falsos positivos débiles y de falsos negativos débiles deben ser similares entre los resultados de los laboratorios supervisados y los del supervisor. Una distribución desigual podría indicar un problema de los supervisores.

Es útil registrar los datos de supervisión de cada laboratorio para monitorear el seguimiento de la calidad en cada uno de ellos (identificar sus errores sistemáticos, avances logrados, ubicarlo en la categoría de laboratorio con consistente buena calidad). Facilita la planificación de la supervisión, capacitación o adquisición de recursos, de acuerdo al desempeño que hayan demostrado.

Para facilitar las actividades de supervisión de los controles externos de calidad en la Red, es conveniente que los responsables nacionales dispongan de copias de los formularios de relecturas de todos los laboratorios en formato electrónico o, en su defecto, en papel. El análisis de la totalidad de las relecturas permitirá un análisis exhaustivo de las acciones de control de calidad de la red. Por ejemplo, el análisis de una base con estos datos en el Programa EPI puede brindar información sobre la cobertura de los laboratorios supervisados, el muestreo utilizado, los errores más frecuentes, la asociación de errores (mala coloración-discordancias de lectura), los laboratorios que necesitan capacitación o visita, e incluso se podrán tener datos sobre el desempeño técnico de los supervisores. A partir de los resultados de este análisis se podrá replanificar las actividades para el nuevo período.

Ejemplos:

1. cuando se listan los servicios con valores no adecuados, se puede observar que su personal ha tenido una capacitación muy corta; esto lleva a programar cursos de baciloscopistas con mayor tiempo de práctica;
2. se observa que en las baciloscopías releídas por el supervisor N.N. hay un alto porcentaje de relecturas con resultado falso positivo; esto hace pensar en la posibilidad de que este supervisor esté perdiendo capacidad de relectura o que tiene una altísima carga de trabajo que le hace perder calidad.
3. se observa asociación entre discordancias de lectura y deficiencias en la coloración; quizá el problema no sea la lectura sino la dificultad en leer en muestras mal coloreadas.

sin colorear para evaluar la calidad de la coloración. Se considera menos eficaz que el control de la periferia al centro, pues con ella no se supervisa el desempeño corriente.

Algunas de las ventajas de este método son la posibilidad de realizar control de calidad externo en un gran número de laboratorios a la vez, tener resultados de consenso, mejorar la credibilidad de los laboratorios, poca sobrecarga de trabajo para los laboratorios supervisados y puede dar una idea del tipo de problemas que puede existir en un laboratorio (coloración, microscopio, calidad de los técnicos).

Sus desventajas son que no evalúa la práctica rutinaria y significa una gran sobrecarga de trabajo para el laboratorio supervisor.

Esta modalidad de supervisión es útil en las siguientes circunstancias:

✓ Suplementar el control de calidad externo por relecturas de baciloscopías de rutina cuando el número de baciloscopías realizadas por el laboratorio es muy bajo.
✓ Tener algún dato aproximado de la calidad cuando no se puede implementar el control de calidad por relectura.
✓ Evaluar a técnicos después de un entrenamiento.
✓ Mantener la habilidad de reconocer bacilos en aquellos laboratorios que por procesar pocas muestras tienen poca oportunidad de ver baciloscopías positivas.

Recursos necesarios

✓ Laboratorio de referencia con capacidad técnica y operativa para la preparación y validación de lotes de baciloscopías.
✓ Mecanismos de distribución de lotes y recursos económicos para el envío
✓ Personal de laboratorio supervisor con tiempo suficiente para analizar los resultados.
✓ Formularios y sistemas de comunicación fluidas.
✓ Capacidad del laboratorio de referencia para implementar las medidas correctivas necesarias, incluida la recapacitación.

Preparación de extendidos

Cuando se usan frotis elaborados, todos los laboratorios que participan en el examen de un conjunto de frotis reciben un conjunto muy similar de frotis, bien preparados y con buena uniformidad, lo que facilita resultados de

Ejemplos de conjunto aceptable de extendidos, en grado de dificultad creciente:

Lote 1	Lote 2	Lote 3
frotis calificado (+++)	1 frotis calificado (+++)	1 frotis calificado (++ / +++)
1 frotis calificado (++)	1 frotis calificado (++)	2 frotis calificados (+)
1 frotis calificado (+)	2 frotis calificados (+)	3 frotis calificados 1-9/100 campos
2 frotis calificados 1-9/100 campos	3 frotis calificados 1-9/100 campos	4 frotis negativos
5 frotis negativos	3 frotis negativos	

Con los extendidos similares preparados en una operación, se deben preparar los lotes individuales para cada laboratorio. Pueden salir aproximadamente 30 lotes de la misma composición. Todos los lotes idénticos deben llevar el mismo número, y cada extendido lleva un número particular. Por ejemplo, Lote 22 puede estar constituido así:

Ejemplo de lote

Lámina 1: negativo
Lámina 2: +
Lámina 3: 1 a 9 BAAR
Lámina 4: negativo
Lámina 5: negativo
Lámina 6: +++
Lámina 7. negativo
Lámina 8: ++
Lámina 9:1 a 9 BAAR
Lámina 10: negativo

- En cada lámina se marca el número de lote y el de la lámina.

se usen lotes idénticos. Una consideración puede ser la de aceptar una muestra sólo cuando más del 80% de los participantes coinciden en los resultados. Si la mayor parte de los técnicos no logra presentar los resultados correctos de un mismo extendido, puede haber un problema en la preparación de extendidos en el laboratorio central y ese frotis debe ser excluido de la clasificación.

En general, los técnicos saben que se les está sometiendo a prueba. Por consiguiente, al usar este método se esperan los mejores resultados de desempeño.

Para la clasificación de errores se utiliza el mismo el mismo esquema que en la modalidad periferia-Centro.

Sistema de calificación

Se proponen aquí tres sistemas diferentes de calificación. Es importante considerar la composición del lote cuando se elige un sistema de calificación. Un programa que use extendidos bien elaborados y con sólo un extendido con "escasos BAAR" puede tener un sistema de calificación más estricto.

Como los extendidos se preparan a partir de muestras conocidas, los extendidos preparados como negativos, deben ser realmente negativos. Por lo tanto, un error falso positivo débil (1 a 9 BAAR/ 100c en el laboratorio supervisado y negativo en el laboratorio de referencia) es error grave.

Cada programa determinará qué considera desempeño aceptable.

1. Lote de 10 extendidos, cada frotis vale 10 puntos. Puntuación total posible = 100.
   a. Todo positivo alto (+, ++ o +++) considerado negativo = 0 puntos
   b. Positivo 1 a 9 BAAR considerado negativo = 5 puntos
   c. Todo negativo considerado positivo = 0 puntos
   d. Aprobado = 90 puntos y no presenta ningún resultado falso positivo alto.

En la medida en que se avance en la mejora de la calidad, ese puntaje debe ser incrementado.

2. Lote de 10 extendidos, cada frotis vale 10 puntos. Puntuación total posible = 100.
   a. Todo positivo considerado negativo = 0 puntos
   b. Todo negativo considerado positivo = 0 puntos
   c. Error de cuantificación (2 grados) = 5 puntos
   d. Aprobado = 80 puntos

Supervisión indirecta operacional

Consiste en el análisis crítico, cualitativo y cuantitativo, de la información estadística periódica que los servicios generan y envían al nivel intermedio o central. Está adquiriendo prioridad en la mayoría de los países, porque la sospecha de deficiencias a partir de este tipo de supervisión debe determinar la necesidad de una supervisión directa o se pueden sugerir algunos consejos.

Las fuentes de información de datos de laboratorios de tuberculosis son el Registro de Bacteriología de Tuberculosis y las planillas de Consolidación Trimestral de Bacteriología de Tuberculosis.

Registro de bacteriología de tuberculosis

Una copia de las hojas de Registro Bacteriológico correspondientes a cada uno de los meses se debe enviar el nivel inmediato superior de la Red de Laboratorios para su análisis. Las variables más importantes a analizar son las siguientes.

Número de Sintomáticos Respiratorios (SR) examinados

De acuerdo a la población en la que presta sus servicios cada laboratorio, se espera un número aproximado de SR a examinar. Este dato es difícil de calcular porque varía según las características de cada población: proporción de mayores de 15 años, patologías prevalentes que causan tos y expectoración por más de 15 días, condiciones climáticas, sistema de atención primaria de salud en el lugar, etc.

Es conveniente establecer a nivel nacional la proporción de SR esperados en un año en la población o entre los consultantes según las características de estos. En general, en América Latina los valores estimados están alrededor del 4 al 6% de las consultas de 1ª vez de los mayores de 15 años.

Es necesario observar los datos en el registro de cada laboratorio y evaluarlos:

- Un valor muy inferior a 4% de los consultantes o a 0,4% de la población en un año, puede indicar que la búsqueda de casos es demasiado pasiva y que los casos podrían llegar demasiado tarde a su diagnóstico.
- Otra causa de valores bajos puede ser que el número de SR estimados no estén adecuados a la realidad de la zona.
- Una proporción mayor de SR se puede observar allí donde los programas de Atención Primaria no esperan pasivamente la consulta de los sintomáticos, sino que se insertan en la comunidad y realizan una búsqueda activa de casos.
- Se pueden observar cambios estacionales en estos números, pero un descenso pronunciado es motivo de alarma y debe inducir a buscar las causas. Es probable que exista una disminución de las actividades de búsqueda

Comparación de datos de laboratorio con datos recogidos por el PCT

- Es muy útil relacionar el número de casos diagnosticados por el laboratorio y los casos notificados al PCTB.
- Si el número de casos diagnosticados por el laboratorio es mayor al notificado, es posible que la información recibida por el laboratorio sobre la condición del enfermo (diagnóstico o en tratamiento) sea deficiente; que la notificación de casos al PCT sea deficiente; que falte comunicación entre el laboratorio y el resto del equipo con consecuente pérdida de casos con bacteriología positiva que no inician tratamiento y no son notificados.
- Si la proporción de casos confirmados bacteriológicamente es baja, puede existir tendencia a diagnosticar sin solicitar exámenes al laboratorio, escasa oferta o accesibilidad del laboratorio, poca confianza en la bacteriología y/o en los resultados del laboratorio. El control de calidad indirecto técnico de las baciloscopías y/o una visita al laboratorio podría revertir las causas inherentes al laboratorio y la búsqueda de casos podría ser mejorada mediante reuniones de todo el equipo.
- Si la comparación de los listados de los nombres de los pacientes que resultaron positivos a la baciloscopía con el de pacientes notificados al PCT y en tratamiento muestra discordancias indica que los laboratorios no han comunicado sus diagnósticos a los responsables de instituir tratamiento en el mismo servicio en forma inmediata y los pacientes se pueden haber perdido. Las discordancias deben inducir a movilizar al servicio de salud para evitar la pérdida de pacientes.

Porcentaje de muestras derivadas

Generalmente los servicios que hacen baciloscopías reciben muestras de otros Centros de Salud que toman muestras. El análisis de la proporción de estas muestras permite evaluar la búsqueda de casos en cada uno de esos centros.

Porcentaje de muestras de control de tratamiento

- Es aconsejable que se verifique si los pacientes detectados dos meses atrás han sido controlados por baciloscopía; de no ser así se debe requerir el control.
- Se espera que por lo menos el 5% de las baciloscopías realizadas sean para control de tratamiento, encontrándose valores inferiores en servicios en los que no se controla bacteriológicamente la evolución del tratamiento.
- Entre estas muestras no debe haber más de un 10 % de positivos. Puede ser de utilidad evaluar la positividad de las baciloscopías de acuerdo al mes de tratamiento: se estima que alrededor del 15% de las baciloscopías del 2º mes de tratamiento son todavía positivas, un valor más alto puede indicar defectos en el tratamiento, más aún si se mantienen baciloscopías positivas en meses posteriores.

Planilla de consolidación trimestral

Los datos obtenidos de los Registros mensuales de Bacteriología pueden ser consolidadas trimestralmente en una planilla.

Las variables a analizar son las mismas ya descriptas en el punto anterior. Un consolidado de 3 meses permite tener una mejor idea de las actividades realizadas y de las tendencias en los servicios pequeños. Estos análisis trimestrales deben ser enviados al laboratorio de Referencia Nacional, al laboratorio supervisado, a la Dirección del Servicio y al PCT, y orientarán la planificación de las actividades de la Red de Laboratorios (supervisiones directas, capacitaciones, obtención de recursos, mantenimiento y reparación de equipos).

Rol de los laboratorios de referencia intermedia de tuberculosis

Control de calidad externo directo

Es responsabilidad del laboratorio intermedio:

- Priorizar los laboratorios de su jurisdicción a visitar y elaborar el cronograma de visitas.
- Obtener los recursos necesarios desde el nivel superior de la Red.
- Dar respuestas a los problemas encontrados, incluyendo la derivación de muestras a otros laboratorios y el reentrenamiento.
- Analizar los resultados, comunicarlos al Programa y utilizarlos en la planificación de actividades

Requerimientos:

✓ Personal de laboratorio preparado para la realización de estas actividades y con tiempo suficiente para visitar al menos una vez al año cada uno de los laboratorios de su jurisdicción.
✓ Transporte y viáticos.
✓ Personal supervisor de TAES especialmente capacitado para supervisión de laboratorios.
✓ Guías de supervisión normalizadas.
✓ Capacidad para implementar las medidas correctivas necesarias, incluido el re- entrenamiento.

Los laboratoristas supervisores deben poseer conocimientos sólidos y actualizados, no sólo sobre bacteriología de la tuberculosis, sino también sobre los aspectos técnicos y operativos del PCT y experiencia en terreno.

El cálculo de las láminas a releer está basado en métodos estadísticos (método LQAS o muestreo de aceptación de lotes); depende de:

- Tasa de positividad de cada laboratorio (proporción de frotis positivos sobre el total de frotis realizados en el laboratorio; se calcula usando los registros de laboratorio del año anterior; se puede utilizar la tasa de positividad promedio de un laboratorio, una región o un país.
- Número total de baciloscopías negativas leídas.
- Sensibilidad (detección de positivos) esperada de la lectura de baciloscopías en base a comparación con una lectura de referencia; se incluyen todos los positivos, hasta los positivos bajos (1-9 BAAR por 100 campos observados); se recomienda una sensibilidad general de 75- 85%.
- Especificidad (detección de negativos) esperada en comparación con las lecturas de referencia; debe ser muy alta, del orden de 99,9% a 100%
- Grado confianza de 95 %.

La Tabla 1 presenta el número de baciloscopías a releer basado en el método LQAS aplicado a los frotis negativos, con un intervalo de confianza de 95%, una sensibilidad de 80%, una especificidad de 99,9%. Cada tamaño de la muestra se incrementó después de modo proporcional a la tasa de positividad, para alcanzar un tamaño de la muestra con frotis tanto positivos como negativos.

Tabla 1. Tamaño de la muestra anual para una sensibilidad de 80% y una especificidad de 99,9%.

Número de frotis por trimestre/año	Tasa de positividad de los frotis					
	5%	**10%**	**15%**	**20%**	**25%**	30%
200	107	72	54	43	36	30
500	154	89	62	48	39	31
1.000	180	96	66	49	40	33
5.000	208	103	69	50	40	33
50.000	216	104	69	51	40	33

- Se debe comenzar por la relectura de las láminas de control de coloración. Si se observaran defectos de coloración como bajo número de bacilos o tinción muy leve, será necesario re-colorear las láminas a supervisar.
- Durante la lectura se efectúa un análisis técnico de la lámina referido calidad de muestras de esputo, extendido y coloración, siguiendo las siguientes pautas:

CALIDAD DE LA MUESTRA	
Mucopurulenta	La mayoría de los campos presenta leucocitos, además de mucus
Mucosa	La mayoría de los campos presenta mucus y muy aislados leucocitos
Saliva	En la mayoría de los campos se observan células epiteliales, escaso mucus y muy escasos leucocitos.
CALIDAD DEL EXTENDIDO	
Bueno	Ocupa 2 cm de largo por 1 cm de ancho. Está homogéneamente distribuido y la mayoría de los campos presenta cantidad suficiente de material, de manera que al mover el micrométrico se observan entre 1 y 3 niveles
Fino	La mayoría de los campos presenta escaso material
Grueso	La mayoría de los campos presenta abundante material y al mover el micrométrico se observan más de 3 niveles
No homogéneo	Presenta zonas finas y zonas gruesas
CALIDAD DE LA COLORACIÓN	
Buena	Se pueden leer 100 campos microscópicos buenos
Buena (con cristales de fucsina)	Se pueden leer 100 campos microscópicos buenos, a pesar de que en el resto del extendido se encuentren campos con cristales de fucsina.
Buena (de fucsina)	
Buena (con falta de decoloración)	Se pueden leer 100 campos microscópicos buenos, a pesar de que en el resto del extendido se encuentren campos con decoloración insuficiente
Deficiente:	La presencia de cristales o la falta de decoloración no permiten leer correctamente al menos 100 campos microscópicos. También se calificará como deficiente la lectura cuando no se observen bien teñidos los bacilos de las láminas de control de calidad interno. La simple relectura no permite calificar como deficiente a la coloración de un extendido en el que, aun existiendo bacilos, éstos no se hayan coloreado.

baja proporción de "buena muestras" exigida se debe a que se solicitan muestras en el momento de la consulta, generalmente de inferior calidad a las matinales y a que se deben hacer los mayores esfuerzos en obtener muestras para certificar la curación al final del tratamiento.

- Una vez descartados los errores debidos a la relectura, los resultados de esta deben ser calificados de acuerdo a la siguiente tabla:

LECTURA LABORATORIO PERIFÉRICO	LECTURA LABORATORIO DE REFERENCIA				
	Negativo	1 a 9 BAAR	+	++	+++
Negativo	Concordancia	Falso negativo débil	Falso negativo	Falso negativo	**Falso negativo**
1 a 9 BAAR	Falso positivo débil	Concordancia	Concordancia	Error cuantitativo	**Error cuantitativo**
+	Falso positivo	Concordancia	Concordancia	Concordancia	**Error cuantitativo**
++	Falso positivo	Error cuantitativo	Concordancia	Concordancia	**Concordancia**
+++	Falso positivo	Error	Error	Concordancia	**Concordancia**
Concordancia de lecturas de baciloscopías					

- El porcentaje de concordancia se calcula tomando los resultados cualitativos, considerando los Falsos positivos débiles como falsos positivos y los falsos negativos débiles como falsos negativos y a los resultados con Error Cuantitativo como concordancias.
- Se debe calcular las tasas de falsos positivos y negativos.

$$\text{Falsos negativos} = \frac{\text{Láminas informadas negativas por el supervisado y positivas por el supervisor}}{\text{Total de láminas negativas para el supervisado.}} \times 100$$

La tolerancia de falsos negativos es 1%, incluyendo los resultados de positivos débiles.

✓ Solución: filtrar con frecuencia, preparar menor cantidad, comprobar si la cantidad de fucsina pesada es la correcta.

En el caso de que un laboratorio haya cumplido con los requisitos mínimos se aconseja otorgar una certificación de que la Red de Laboratorios de Tuberculosis garantiza la calidad del mencionado laboratorio.

Conducta a seguir frente a discordancias.

- En la planilla de lecturas comparativas se debe marcar la discordancia, reenviarse la lámina discordante al responsable del laboratorio supervisado solicitándole que vuelva a leerla y/o que consulte sus registros, pues a veces se debe a errores de transcripción de resultados en la lista enviada.
- Si corresponde a una "discordancia comprobada" es aconsejable que el laboratorista comunique este error al médico que trata al enfermo, muy especialmente si ha sido una baciloscopía de diagnóstico, pues algunas veces este hallazgo puede significar cambios en la actitud con el enfermo.
- Un laboratorio que presenta porcentajes de concordancia de lecturas y/o de calidad de muestras, extendidos y coloraciones inferiores a los esperados, debe ser visitado a fin de averiguar las causas de los errores (fallas del microscopio, excesiva carga de trabajo, procedimientos técnicos no adecuados, etc.) o sus técnicos deberán ser recapacitados.

La finalidad primaria del control es conocer la calidad general de la baciloscopía para mejorar el desempeño. Por ello es esencial hacer llegar comentarios al laboratorio periférico de manera regular y oportuna.

Seguimiento de la calidad de cada laboratorio

Es útil registrar los datos de supervisión de cada laboratorio para monitorear el seguimiento de la calidad en cada uno de ellos (identificar sus errores sistemáticos, avances logrados, ubicarlo en la categoría de laboratorio con consistente buena calidad). Facilita la planificación de la supervisión, capacitación o adquisición de recursos, de acuerdo al desempeño que hayan demostrado.

Es conveniente que todos los datos obtenidos sean comunicados al nivel inmediato superior de la Red a fin de que contribuyan a la planificación de actividades para el próximo período y la oportuna consecución de recursos.

Control de calidad de la baciloscopía

Equipos e insumos

❖ Microscopio:

Asegurar la mejor visión posible. Utilizar papel suave, que no desprendan fibras, para limpiar regularmente las lentes y oculares. Cuando, aún con esta limpieza no se logra visión nítida, embeber el pañuelo con unas gotas de alcohol isopropílico.

Evitar refringencias manteniendo centrada la iluminación en el campo que se observa con lente de inmersión. Para ello:

- enfocar un preparado con lente de inmersión
- cerrar el diafragma de campo (un anillo generalmente ubicado en el pie del microscopio, no en el condensador) hasta que se vea un círculo de luz. Si el círculo de luz no aparece, buscarlo moviendo los tornillos del condensador lenta y suavemente, hasta verlo
- centrar el círculo de luz
- ubicar el condensador, con movimientos lentos y suaves, en el punto donde el círculo de luz aparezca con los bordes lo más nítidos posibles
- enfocar el preparado hasta que se vea lo más nítido posible
- abrir el diafragma de campo hasta que el círculo de luz cubra todo el campo que se está observando, pero no más que eso (de otra manera el haz de luz se dispersa por fuera y la visión pierde nitidez)
- mover suavemente el diafragma del condensador hasta lograr la mejor visión posible (generalmente, queda bien ubicado en una posición cercana a los 2/3 de la apertura total)
- regular la intensidad de la iluminación (con el botón que aumenta o disminuye la cantidad de luz) hasta el punto donde la visión resulte más cómoda para el bioanalista.

Con manejo delicado, la luz del microscopio se mantiene centrada durante varios días de uso. Instruir a los bioanalistas que utilizan el equipo para que no muevan la posición del condensador y de los diafragmas. En cambio, si es conveniente que cada uno regule, según su necesidad, el micrómetro y la intensidad de la iluminación. Cuando la visión pierde nitidez, se centrará nuevamente la iluminación. Se requieran sólo pequeños ajustes, si el manejo ha sido cuidadoso. Además de permitir una mejor imagen, estos cuidados, contribuyen a aumentar la vida útil del equipo.

Tabla 2. Causas posibles de errores, falsos positivos y negativos durante el procesamiento de baciloscopias por ZN.

CAUSAS DE ERROR		FALSOS POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS
INHERENTES A LA MUESTRA	No representativa de la lesión		X
	Recogida en momento inadecuado		X
	Insuficiente		X
	Mal conservada (bacteriólisis)		X
INHERENTES AL OPERADOR	Mala selección de la partícula útil		X
	Defecto en la realización del extendido:		
	a) extendidos finos, gruesos o poco homogéneos.		X
	b) uso de portaobjetos rayados o sucios	X	
	c) fijación de extendidos húmedos o a temperaturas superiores a 60ºC		X
	Defectos en la realización de la coloración:		
	a) calentamiento deficiente o excesivo		X
	b) decoloración insuficiente	X	X
	c) precipitación de cristales por uso de reactivos no filtrados o por calentamiento excesivo.	X	X
	d) decoloración excesiva		X
	Defectos en la lectura:		
	a) uso de microscopio en mal estado	X	X
	b) lectura de un número insuficiente de campos.		X
	c) observación de 1 solo nivel del extendido		X
	d) poca capacidad para diferenciar bacilos de artificios de coloración.	X	X
	Transferencia de bacilos de un extendido a otra asa mal flameada, varilla de aceite de inmersión contaminada.	X	
	Confusión de muestras y/o extendidos	X	X
	Errores en trascripción de resultados	X	X
INHERENTES A LA TÉCNICA	Límite de sensibilidad 5.000-10.000 bacilos/mL		X
	Especificidad: se detectan BAAR que pueden ser no patógenos y Nocardia.	X	
	Reproducibilidad: Con una concentración superior a 10 bac/100 campos es cercana a 100%, pero entre 1 y 10 bac/100 campos es inferior a 80 %		X

Control de calidad externo de baciloscopías

Conservación de las láminas.

- Todos los laboratorios que efectúan baciloscopías deben conservar la totalidad de las láminas procesadas durante un mes (si procesan menos de 1000 baciloscopías anuales) o de un trimestre (si procesan más de 1000 baciloscopías anuales), incluidas las láminas utilizadas en el control de calidad interno de la coloración, hasta el día 15 del mes siguiente.
- Para ello, se les debe quitar suavemente el aceite de inmersión apoyando sobre ellas papel absorbente y cubrirlas o sumergirlas en alcohol 70% durante no más de 30" dejándolas luego secar al aire. Una vez secas, es necesario revisar su identificación, remarcarlas si se hubiera borrado y guardarlas en una caja para láminas portaobjetos.
- Si no se dispusiera de alcohol se pueden enviar envueltas una por una en papel después de haber absorbido la mayor cantidad posible de aceite sin frotar el portaobjetos.
- Se deben guardar en el mismo orden en que fueron procesadas, sin separar las positivas de las negativas. No se debe rotular en el extendido el resultado de su lectura.
- Si no se dispusiera de cajas especiales, guardarlas en cajas de cartón envueltas individualmente cada lámina en papel.
- Conservarlas en lugar fresco y seco para evitar los efectos del calor y la humedad sobre la coloración.
- Si antes del día 15 del mes (en los laboratorios que procesan menos de 1000 baciloscopías anuales) o del día 15 del mes siguiente a la finalización de un trimestre (en los laboratorios que procesan más de 1000 baciloscopías anuales), se le requiere enviar las láminas al laboratorio de referencia, acondicionar la totalidad de las mismas agregando una copia de las hojas del Registro de Laboratorio correspondiente a ese/os mes/es y el resultado de la muestra de esputo original con la que se hicieron los extendidos de control positivos.
- En caso de que no se le soliciten, las láminas pueden ser desechadas.

Procesamiento de la muestra

❖ *Recepción:*

Verificar que las muestras estén siendo recibidas con identificación clara y acompañada por la solicitud conteniendo la información establecida por las Normas Técnicas del Programa. Es fundamental para el laboratorio diferenciar muestras recibidas para investigación diagnóstica de las recibidas para control de tratamiento. No sólo porque esto permite interpretar los resultados y orientar la secuencia de estudios bacteriológicos necesarios para cada paciente. La falta de esta información inhabilita el monitoreo de resultados bacteriológicos como método de control de calidad interno. Si esto no sucede, comunicarse con las personas que derivan las muestras para reorganizarla.

UNA VEZ AL MES, QUIEN SUPERVISE LAS TAREAS TÉCNICAS, CONTROLARÁ QUE SE ESTÉN CUMPLIENDO TODAS ESTAS PAUTAS EN LA PREPARACIÓN DE REACTIVOS, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS, REGISTRO Y ELABORACIÓN DE INFORMES (TRIMESTRALES, SEMESTRALES Y ANUALES).

- Van Deun A et al. Optimal tuberculosis case detection by direct sputum smear microscopy: ¿How much better is more? Int J Tuberc Lung Dis. 6(3):222-230. 2002.
- Van Deun A, Portaels F. Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2: 756-65.
- WHO Tech Rep Series 823, 32nd Report. Geneva 1992).
- WHO, Laboratory Services in Tuberculosis Control. Part I: Organization and Managing, Ginebra, 1998, p 41-3.
- WHO. Quality Managements Systems in the Medical Laboratory. D.M. Browning. 2004.
- Woods GL, Ridderhof JC. Quality Assurance in the Mycobacteriology Laboratory. Clinics in Laboratory Medicine; 1996; 16:657-75.

4- No ubicar en el área de trabajo elementos innecesarios ni sacar de los mismos libros de registro o elementos allí utilizados.

5- Utilizar siempre bata sanitaria de mangas largas con cierre atrás; no sacarla del centro de salud, donde debe ser desinfectado y lavado (agua caliente y enjuague con agregado de hipoclorito de sodio).

6- No beber, no comer, no fumar, no maquillarse, en el área de trabajo donde se procesa material potencialmente infeccioso.

7- No es necesario utilizar mascarillas de seguridad para efectuar baciloscopías, ya que no se ha demostrado que exista una correlación entre la preparación del frotis de esputo y el riesgo de infección tuberculosa. Las mascarillas de cirugía no protegen a quien los usa. En aquellos laboratorios con una carga de trabajo diaria de baciloscopías o con porcentajes elevados de positividad o en laboratorios donde se procesen muestras de pacientes hospitalizados con TB- MDR, se recomienda el uso de mascarillas N95.

8- Es conveniente el uso de guantes para protección de otras enfermedades. Si hubiera heridas o escoriaciones en las manos, cubrir con vendaje y guantes. Para la limpieza con soluciones antisépticas es conveniente el uso de guantes de látex o de uso doméstico.

9- Lavarse las manos con frecuencia, aun cuando se usen guantes. No tocar instalaciones, material de escritorio o equipamiento del laboratorio con guantes o sin antes lavarse las manos.

Precauciones en la toma y conservación de muestras y realización de baciloscopías

1. Tomar en cuenta todas las recomendaciones hechas en los incisos de recolección y recepción de muestras y de realización de bacilocopías: las muestras de esputo se recogen en un lugar bien ventilado, nunca en el laboratorio, acondicionar las muestras en envases resistentes y herméticos, comprobar que no haya derrames en las muestras; desinfectar el exterior del envase, sistematizar el procesamiento de las muestras; disponer siempre de un frasco con hipoclorito de sodio al 0,5%; trabajar con un mechero entre los especímenes y el operador al realizar los extendidos; conservar los bordes limpios, sin muestra y colorearlos tan pronto estén secos.
2. Ante cualquier rotura del envase o tubo con material potencialmente contaminado cubrir inmediatamente la zona con papel, añadir fenol al 5% o hipoclorito de sodio al 2% y abandonar el área de trabajo por 30 minutos. Al regresar recoger el material con pinzas y depositarlo en un recipiente donde pueda ser incinerado o autoclavado.
3. De preferencia utilizar aplicadores para realizar los extendidos.
4. Si se usa pipeta cuidar que la punta superior esté protegida con algodón; no pipetear nunca con la boca.

Elementos ópticos

El espejo tiene dos caras, una plana y otra cóncava, y envía un haz de luz paralelo de la fuente de iluminación al eje óptico del microscopio. Por lo general, la fuente de iluminación está fijada al pie del microscopio. La fuente de iluminación fija mantiene una distancia y alineación constantes. Se utilizan bombillas de halógeno, generalmente pequeñas y de gran intensidad. También pueden emplearse lámparas con filamento de tungsteno.

El condensador es una lente que concentra la luz en el portaobjetos. Para enfocar, se giran los tornillos micrométricos hasta que el haz de luz esté concéntrico con el objetivo. Cuanto mayor sea la abertura del diafragma tanto mayor será el ángulo de la visión. Para objetivos de inmersión la abertura para el paso de la luz debe ser pequeña.

Enfoque en el microscopio

✓ Debe utilizarse un microscopio con condiciones adecuadas de óptica, equipado con un objetivo de inmersión (100 x) y un ocular 8 o 10 x. Es conveniente tener extendidos positivos coloreados para controlar periódicamente las buenas condiciones del aparato. Tenga en cuenta que estos extendidos positivos se van decolorando con los sucesivos lavados.
✓ Asegúrese de que la fuente de iluminación esté bien regulada y centrada. Asegúrese de que las lentes, los espejos y otras superficies que transmiten luz estén limpios. Asegúrese de que el condensador esté en la posición superior con el diafragma abierto. Ajustar la luz, el espejo, el condensador y el diafragma a fin de que llegue un haz de luz potente a la lente del objetivo.
✓ Girar el tornillo de ajuste grueso para alejar el objetivo de la platina.
✓ Para usar la lente de inmersión en aceite, girar el portaobjetivos para que la lente esté ubicada sobre el frotis.
✓ Apoyando el portaobjetos sobre la mesa dejar caer una gota de aceite de inmersión sobre la parte del extendido coloreado cercana al número. No se debe tocar el extendido con la punta del gotero o varilla para evitar pasar partículas de un extendido a otro y generar falsos resultados positivos.
✓ Colocar el portaobjetos sobre la platina dejando la superficie cubierta por el aceite justo debajo de la lente de inmersión y bajar ésta lentamente con el tornillo macrométrico hasta que toque ligeramente el aceite. En ese momento observar a través de los oculares y continuar bajando muy lentamente hasta ver el material coloreado del extendido, continuar ajustando el tornillo micrométrico hasta ver una imagen nítida.

Cuidados del microscopio

Cuando no se usa, el microscopio debe ser guardado en un ambiente seco y libre de polvo y de vibraciones.

✓ Al terminar de usar el microscopio, bajar la intensidad de la luz y luego apáguelo.
✓ Debe evitarse la exposición del microscopio a la luz solar directa, a los mohos y a la humedad.

ANEXO 3: PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivos para la tinción Ziehl Neelsen

Reactivos de coloración

- ✓ fucsina básica,
- ✓ alcohol ácido,
- ✓ azul de metileno,
- ✓ fenol al 5 %,
- ✓ hipoclorito de sodio al 1 %,
- ✓ aceite de inmersión,
- ✓ alcohol al 70%.

Preparación de los reactivos

Fucsina (Solución A)

Fucsina básica.....3 g

Alcohol 95°.....100 mL

Se disuelve la fucsina básica en el alcohol, agitando suavemente.

Solución acuosa de Fenol (Solución B)

Cristales de fenol*.....5 g

Agua destilada..... 1000 mL

*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 disuelto con calentador eléctrico con la tapa del frasco ligeramente abierta); de esta manera se mantiene líquido y debe conservarse protegido de la luz para evitar su oxidación.

Solución de trabajo de fucsina fenicada al 0,3 %

Para preparar la solución de trabajo de fucsina fenicada al 0,3 %, mezclar:

Solución A..... 10 mL

Solución B..... 90 mL

- ✓ Permanganato de potasio.
- ✓ Alcohol de 95°.
- ✓ Ácido clorhídrico al 37%.

Solución de Auramina-O

Solución 1

Manipular la auramina con guantes, debe evitarse todo contacto porque es cancerígena.

- Auramina 0,1 g
- Etanol 95% 10 ml

Disolver la auramina en el etanol.

Solución 2

- Cristales de fenol 3 g
- Agua destilada 87 ml

Disolver los cristales de fenol en el agua.

Mezclar las soluciones 1 y 2.
Guardar el colorante así preparado en una botella color ámbar bien tapada, alejada del calor y de la luz. Rotular con el nombre Solución de Auramina-O y las fechas de preparación y vencimiento.
Almacenar a temperatura ambiente no más de 3 meses.
No filtrar con papel. Puede detectarse alguna turbidez que no afecta la coloración.

Solución decolorante

- Ácido clorhídrico 0,5 ml
- Etanol 70% c.s.p. 100 ml

Agregar siempre el ácido al alcohol, suavemente, y no al revés porque la temperatura de la solución aumenta explosivamente. Rotular la botella con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento.
Almacenar a temperatura ambiente.

Colorantes de contraste

ANEXO 4: SOLICITUD DE BACTERIOLOGÍA DE LA TB

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
LABORATORIO NACIONAL DR. DEFILLO
LABORATORIO CENTRAL DE TUBERCULOSIS

Fecha y N. Registro Laboratorio Central: __/__/__ #__

Fecha y N. Registro Laboratorio TB: __/__/__ #__

SOLICITUD DE BACTERIOLOGIA EN TUBERCULOSIS

I. ESTABLECIMIENTO DE SALUD

Código del EESS:	Nombre del EESS:	Región:	Provincia:
Municipio:	Teléfono:	Correo Electrónico:	

Fecha de Solicitud: ____ Médico que solicita la prueba: ____

II. IDENTIFICACION DEL PACIENTE

Código SIGE ____ ARS ____ No. Afiliado ____

1er. Apellido: ____ 2do. Apellido: ____ 1er nombre: ____ 2do Nombre: ____

Sexo: ◯ M ◯ F Edad: ____ Cédula: ____ Nacionalidad: ◯ Dominicano ◯ Extranjero: ____

Dirección: ____

Teléfono: ____ Referencia (domicilio): ____

III. MUESTRA

Tipo de muestra: ◯ Esputo ◯ Otra: Especificar: ____ Fecha Recolección: ____

IV. CRITERIOS PARA LA SOLICITUD DE PRUEBAS BACTERIOLOGÍA

1. Localización
◯ Pulmonar ◯ Extrapulmonar Especificar: ____
2. Resultado de baciloscopía inicial
◯ BK negativo ◯ Paucibacilar ◯ BK positivo ◯ Desconocido
3. Antecedente de tratamiento
◯ Nuevo ◯ Antes Tratado (Especificar, escoger solo uno)
◯ Fracaso a tratamiento
◯ Recaída
◯ Recuperado después de perdida en seguimiento
◯ BK+ 2do/3er mes de tratamiento
◯ Otro

4. Condición VIH
◯ Positivo ◯ Negativo ◯ Desconocido
5. Otros sospechosos de Drogorresistencia
a. Contacto de TB RR/MDR ◯ SI ◯ NO
b. Persona Privada de libertad ◯ SI ◯ NO
c. Trabajador de prisiones ◯ SI ◯ NO
d. Trabajador de salud ◯ SI ◯ NO
e. Nexo epidemiológico ◯ SI ◯ NO
6. Casos TB Pulmonar clínicamente diagnosticado ◯ SI ◯ NO
7. Fecha de inicio de síntomas: __/__/__

V. PRUEBA(S) SOLICITADA(S)

◯ Baciloscopía, especificar: ◯ Diagnostico Serie ____ Muestra ____
◯ Control Mes de control ____.

◯ Xpert MTB/RIF

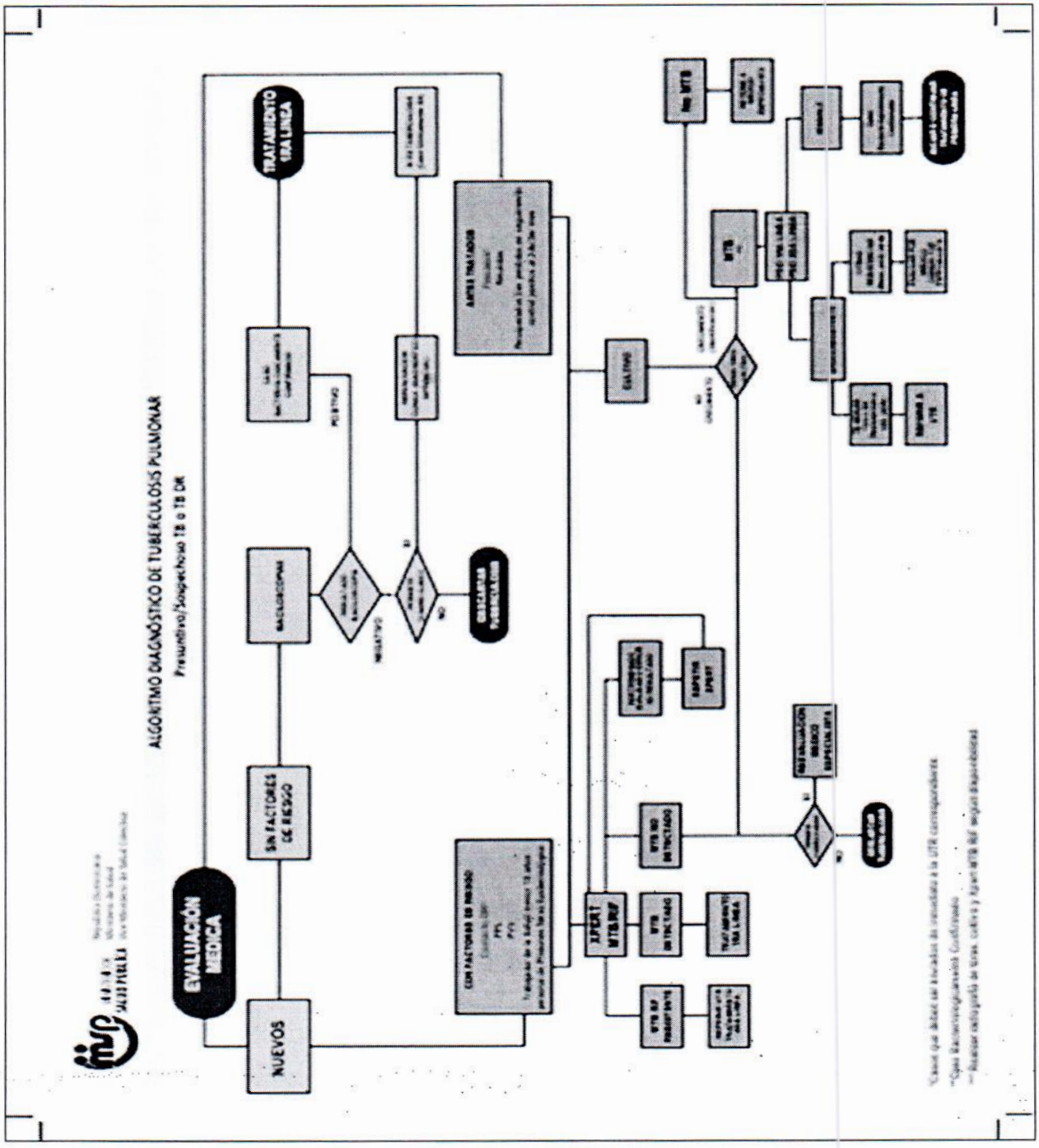
◯ Cultivo ◯ Diagnostico
◯ Control Mes de control ____

◯ Prueba de Sensibilidad

Firma

Sello

Anexo 6: ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR EN REPÚBLICA DOMINICANA



Numerador	Número de casos de TB notificados como nuevos y recaídas con confirmación bacteriológica
Denominador	Número de casos de TB notificados como nuevos y recaídas

Desagregados por tipo de TB, VIH, adultos y niños.

INDICADOR 4.

Porcentaje de sitios establecidos con un sistema de conectividad de datos, que transmite los resultados electrónicamente a los médicos y a un sistema de gestión de la información.

Meta a 2020 –100% de los sitios

Meta a 2025 –90% de los casos (95% en recaídas)

Forma de cálculo	
Numerador	Número de sitios de prueba que utilizan un diagnóstico rápido recomendado por la OMS en el que se ha establecido un sistema de conectividad de datos que transmite los resultados electrónicamente a los médicos y a un sistema de gestión de la información
Denominador	Número de sitios de prueba que utilizan un diagnóstico rápido recomendado por la OMS

INDICADOR 5.

¿La política nacional indica que las pruebas diagnósticas y de seguimiento de TB provistas a través del Programa Nacional de Control de Tuberculosis son gratuitas, para todas las personas con signos y síntomas de Tuberculosis?

Meta a 2020 – Si para todos los países

OBJETIVO 2. Alcance al acceso universal a las Pruebas de Sensibilidad y Resistencia.

INDICADOR 6.

¿La política nacional y el algoritmo de diagnóstico indican que hay acceso universal a Pruebas de Sensibilidad y Resistencia?

Meta a 2020 – Si para todos los países

Forma de cálculo	
Numerador	Número de sitios de prueba de diagnóstico (estratificados por tipo de prueba de diagnóstico) que supervisan los indicadores de rendimiento y están inscritos a un sistema de evaluación externa de la calidad para todos los métodos de diagnóstico realizados.
Denominador	Número de sitios de prueba (estratificados por tipo de prueba de diagnóstico)

El monitoreo de este indicador debe estratificarse según el tipo de prueba de diagnóstico: microscopía, GeneXpert MTB/RIF, LPA, cultivo o DST fenotípica.

Para los WRD, los indicadores clave de rendimiento deben monitorearse al menos mensualmente y la monitorización remota debe usarse a través de una solución de conectividad de datos.

El EQA debe incluir visitas de supervisión regulares y pruebas de panel (o una nueva comprobación de portaobjetos, en el caso de microscopía), de acuerdo con el sistema nacional

INDICADOR 10.

Porcentaje de sitios de Pruebas de sensibilidad y Resistencia que han demostrado competencia mediante pruebas de panel de evaluación externa de calidad para todos los métodos de Pruebas de Sensibilidad y Resistencia realizados.

Meta a 2020 –100%

Forma de cálculo	
Numerador	Número de sitios con PSD que han demostrado competencia por las pruebas de panel de evaluación externa de calidad.
Denominador	Número de sitios con PSD

El monitoreo de este indicador debe estratificarse por primera y segunda línea.

PSD incluye métodos fenotípicos y moleculares.

Las pruebas de panel deben realizarse al menos una vez al año.

La competencia demostrada se define como un sitio que logra resultados satisfactorios, según los criterios predeterminados del programa EEC, en el panel más reciente evaluado.