

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA**



**Evaluación de parámetros e indicadores para el Control de Calidad en baciloscopia a laboratorios que integran la Red de Tuberculosis realizado en el Instituto Nacional del Tórax de la ciudad de La Paz
(Enero - mayo de 2004)**

TRABAJO DIRIGIDO

Para obtener el título de Licenciatura en Bioquímica

Egr. KARINA BOLIVAR ENRIQUEZ

ASESOR INSTITUCIONAL: DRA. ROXANA ZAMBRANA

ASESOR ACADEMICO: DR. PABLO IRAHOLA

LA PAZ – BOLIVIA

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA BIOQUIMICA**



**Evaluación de parámetros e indicadores para el Control de Calidad en baciloscopia a laboratorios que integran la Red de Tuberculosis realizado en el Instituto Nacional del Tórax de la ciudad de La Paz
(Enero - mayo de 2004)**

TRABAJO DIRIGIDO

Egr. KARINA BOLIVAR ENRIQUEZ

LA PAZ – BOLIVIA

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.	1
2.- ANTECEDENTES.	1
2.1. AGENTE ETIOLÓGICO	3
2.1.1 Lípidos	3
2.1.2. Proteínas	4
2.1.3. Polisacáridos	4
2.1.4. Patogenia	4
2.1.5. Micobacterias atípicas	6
2.2. DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS	7
2.2.1. Examen Radiológico	7
2.2.2. Examen Anatomopatológico.	7
2.2.3. Prueba de La Tuberculina	7
2.2.4. Técnica de Diagnostico Molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	8
2.2.5. Cultivo de Micobacterias	9
2.2.5.1 Condiciones Básicas Para Solicitar Cultivo	10
2.2.5.2. Medios De Cultivo	11
2.2.5.3. Muestras Utilizadas Para Aislamiento De Micobacterias	12
2.2.5.4. Procedimiento Para Muestras Contaminadas	11
2.2.6. Baciloscopia	12
2.2.6.1. Funciones del laboratorio	13
2.2.6.2. Acondicionamiento físico del laboratorio	14
2.2.6.3. Material necesario	15
2.2.6.4. Preparación de los reactivos para el método de tinción de Ziehl – Neelsen ...	15
2.2.6.4.1. Fucsina Fenicada	16
2.2.6.4.2. Alcohol Ácido	16
2.2.6.4.3. Azul De Metileno	16
2.2.6.5 Toma de muestras	17
2.2.6.5.1. Hisopado laríngeo	17

2.2.6.5.2. Lavado gástrico	17
2.2.6.5.3 Orina	18
2.2.6.5.4. Pus	19
2.2.6.5.5. Materias fecales	19
2.2.6.5.6. Líquido cefalorraquídeo y de otras serosas	19
2.2.6.5.7. Biopsias y material resecado	20
2.2.6.5.8. Muestras de esputo para el diagnóstico	21
2.2.6.6. Muestras de esputo para el seguimiento	22
2.2.6.7. Recolección de las muestras de esputo	22
2.2.6.8. El envase de recolección de esputo	24
2.2.6.9. Transporte de las muestras de esputo	26
2.2.6.10. Registro del paciente	27
2.2.6.11. Identificación de láminas	28
2.2.6.12. Confección del extendido	28
2.2.6.13. Fijación del extendido	29
2.2.6.14. Coloración (Técnica Ziehl – Neelsen)	29
2.2.6.15. Decoloración	30
2.2.6.16. Coloración de fondo	30
2.2.6.17. Calidad del extendido y la muestra	31
2.2.6.18. Examen microscópico de los extendidos de esputo	31
2.2.6.18.1. Uso del microscopio	31
2.2.6.19. Examen de los frotis	33
2.3. ESTRUCTURA DEL PROGRAMA NACIONAL DE TUBERCULOSIS	34
2.4. CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS	35
2.4.1. Medidas de control de calidad que deben aplicarse en todos los laboratorios de baciloscopia	37
2.4.1.1. Organización y administración del laboratorio	37
2.4.1.2. Equipo de laboratorio	38
2.4.1.2.1. Para el microscopio	38
2.4.1.3. Muestras y formularios de solicitud	39
2.4.1.4. Reactivos y colorantes	39
2.4.1.5. Tinción y examen de los frotis	40

2.4.2. Laboratorio supervisor	40
2.4.2.1 Instructivo de envío de láminas y de informes	40
2.4.2.2. Remisión de láminas	41
2.4.2.3. Presentación del informe	41
2.4.2.3.1 Baciloscopias de diagnóstico	42
2.4.3. Solicitud del material	42
2.4.3.1. Interpretación de resultados	43
2.4.3.2. Discordancias mayores	43
2.4.3.2.1. Falsos positivos	43
2.4.3.2.2 Falsos negativos	44
2.4.3.3. Discordancias menores	44
2.4.3.3.1. Calidad de los extendidos	45
2.4.3.3.2 Calidad de la tinción	45
2.5. RED DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ	47
2.5.1 Microred de laboratorios de diagnóstico de Tuberculosis del departamento de La Paz	47
2.5.2. Red de laboratorios del área urbana	48
2.5.3. Red de laboratorios del área rural	49
2.5.4. Laboratorios del distrito de la ciudad de El Alto	53
3. JUSTIFICACIÓN	53
3.1. JUSTIFICACION GENERAL	53
3.2. JUSTIFICACION OPERATIVA	54
4. OBJETIVOS	54
4.1 OBJETIVO GENERAL	55
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	55
5. MATERIALES Y METODOS	55
5.1. METODOLOGÍA	56
5.1.1 Recepción de láminas – informes	56
5.1.2 Condiciones para el control de calidad	57
5.1.3 Selección de láminas	57

5.1.4. Primera lectura	58
5.1.5 Compatibilización de resultados (supervisor – supervisado)	58
5.1.6. Selección de discordancias	59
5.1.7. Segunda lectura	59
5.1.8. Recoloración	59
5.1.9. Elaboración del Pre – informe	60
5.1.10. Elaboración del informe final	60
5.1.11. Entrega de resultados informe de control de calidad	60
6. RESULTADOS	61
7. CONCLUSIONES	73
8. BIBLIOGRAFÍA	75

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. Proporción de láminas controladas en relación a láminas informadas.....	60
TABLA 2. Total de láminas sometidas al control de calidad	60
FIGURA 1. Control de calidad de baciloscopias del área urbano.....	61
FIGURA 2. Control de calidad de baciloscopias del área rural.....	61
TABLA 3. Discordancias en láminas sometidas a control de calidad.....	62
TABLA 4. Calidad del extendido.....	64
TABLA 5. Calidad de la tinción de baciloscopia de laboratorios periféricos.....	65
FIGURA 3. Calidad del extendido de laboratorios periféricos del área urbana.....	66
FIGURA 4. Calidad del extendido de laboratorios periféricos del área rural.....	66
FIGURA 5. Calidad de la tinción de laboratorios periféricos del área urbana.....	67
FIGURA 6. Calidad de la tinción de laboratorios periféricos del área rural.....	67
TABLA 6. Número de muestras procesadas por Sintomático Respiratorio.....	69
FIGURA 7. Promedio de Sintomático Respiratorio del área urbana y rural.....	70
FIGURA 8. Calidad de la muestra de los laboratorios.....	70

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Informe de láminas para el control de calidad obtenida en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis.....	77
ANEXO 2. Informe trimestral de baciloscopias obtenidas en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis.....	78
ANEXO 3. Registro de control de calidad de baciloscopias obtenidas en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis.....	79
ANEXO 4. Pre informe de control de calidad obtenida en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis.....	80
ANEXO 5. Informe final de control de calidad obtenida del Laboratorio Departamental de Tuberculosis.....	81

DEDICATORIA:

A Dios por ser la luz que ilumina

Mi camino

A mis padres y hermanos en gratitud

Por el apoyo y amor incondicional que recibo

A mi esposo e hijo por el apoyo,

La felicidad y amor que me brindan día a día.

RESUMEN

Tuberculosis, enfermedad infecciosa aguda o crónica producida por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que puede afectar a cualquier tejido del organismo.

Anualmente se diagnóstica en el país un promedio de 10000 pacientes con tuberculosis, se estima que cada paciente puede infectar de 10-12 personas susceptibles.

El examen microscópico directo de esputo o baciloscopia es rápido, económico y la garantía del control de calidad de la baciloscopia es un sistema diseñado para mejorar continuamente la fiabilidad, la eficiencia como opción de diagnóstico y de monitoreo.

De un total de 1376 láminas informadas por los laboratorios periféricos se realizó el control de calidad a 402 láminas en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis.

En la evaluación realizada se obtuvo 0 % de discordancias mayores, un total de 60.76 % de buenos extendidos, 80,82 % de láminas con buena tinción, 2.44 promedio total de Sintomático Respiratorio, en relación a la calidad de muestra 33.53 % son muestras salivales.

A través del trabajo realizado se puede garantizar la calidad de los extendidos y lectura óptima de los mismos, gracias a la capacitación del personal de laboratorio tanto del área urbana como rural, que se realiza en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis del departamento de La Paz

1. INTRODUCCION.

Anualmente se diagnostica en el país un promedio de 10.000 pacientes con Tuberculosis.

En el país se registraron tasas de incidencia que fueron las más elevadas del continente, conjuntamente con las de Perú.

El riesgo anual de infección proporción de la población que será infectada o reinfectada con el bacilo de Koch en un año, según estimaciones de la OPS, OMS para el país, se encuentra entre el 2 a 3 %.

Se estima que cada paciente bacilífero no diagnosticado ni tratado puede infectar a 10 – 12 personas susceptibles en un año, lo que provoca la gran cantidad de personas infectadas por el *Mycobacterium tuberculosis*.

El Programa Nacional de Control de Tuberculosis es un programa preventivo a escala nacional, cuyas normas se ejecutan en todos los establecimientos del país y las prestaciones de diagnóstico y tratamiento están garantizadas en el Seguro Básico de Salud.

Los exámenes bacteriológicos de la Tuberculosis constituyen un apoyo indispensable al Programa de Control de la Tuberculosis, en el diagnóstico, el control de la eficacia del tratamiento y en la evaluación de procedimientos de laboratorio y en la operacionalización estratégica específica.

2.- ANTECEDENTES

Tuberculosis, enfermedad infecciosa aguda producida por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que puede afectar a cualquier tejido del organismo pero que se suele localizar en los pulmones. El nombre de Tuberculosis deriva de la formación de unas estructuras celulares características denominadas tuberculosas, donde los bacilos encerrados. La enfermedad no suele aparecer en animales, su hábitat natural pero puede afectar al ganado vacuno, porcino y avícola.

A principios del siglo XIX los trabajos de los médicos franceses Gaspar Laurent Bayle y Rene Laenec establecieron las formas y estudios de la Tuberculosis como enfermedad, ambos fallecieron por su causa. El microbiólogo alemán Robert Koch descubrió en 1882, el agente causal, el bacilo de la tuberculosis (también conocido como bacilo de Koch). En 1890, desarrollo la prueba de la tuberculina para el diagnóstico de la enfermedad. En 1924, los bacteriólogos franceses Albert Leon Calmette y Alphonse F.M Guerin desarrollaron una vacuna denominada BCG (Vacuna del Bacilo de Calmette y Guerin).

La Tuberculosis es hasta ahora un problema endémico mas importante de la salud pública, pues en nuestro país esta asociado con los niveles de pobreza, existen factores que desencadenan la presencia de la enfermedad que se presentan en el paciente muchas veces por desconocimiento del Programa de Control de la Tuberculosis, la aparición de pacientes resistentes a la quimioterapia antituberculosa, la falta de regencia farmacéutica de los fármacos y el tratamiento de la tuberculosis.

El laboratorio de diagnóstico de la tuberculosis, se constituye en la parte mas importante a nivel del equipo de salud del sistema de control de la tuberculosis, porque da el diagnóstico del paciente Sintomático Respiratorio para proceder o no con el tratamiento, con el reporte del diagnóstico directo o baciloscopia, un laboratorio de diagnóstico de tuberculosis esta organizado en un sistema de gerencia de laboratorios cumplen normas del sistema nacional de control de tuberculosis administra y organiza una RED DE

LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS. (11) Zambrana Roxana, 2003.

2.1. AGENTE ETIOLÓGICO

Los constituyentes descritos enseguida se encuentran principalmente en las paredes celulares. Las paredes de la célula micobacteriana pueden inducir hipersensibilidad retardada, dan cierta resistencia contra la infección, y reemplazan a las células micobacterianas enteras en el adyuvante de Freund. El contenido de células micobacterianas sólo provoca reacciones de hipersensibilidad retardada en animales previamente sensibilizados.

2.1.1 Lípidos

Las micobacterias son ricas en lípidos, entre éstos se incluyen ácidos micólicos (ácidos grasos de cadena larga, C 78 – C 90), ceras y fosfátidos. En la célula, los lípidos están unidos en su mayor parte a proteínas y polisacáridos. El muramildipeptido (del peptidoglucano) combinado en ácidos micólicos, puede ocasionar la formación de granuloma; los fosfolípidos inducen necrosis caseosa.

Hasta cierto grado los lípidos son responsables de la resistencia a ácidos y alcohol. Su eliminación con ácido caliente suprime esta propiedad, la cual depende de la integridad de la pared celular y de la presencia de ciertos lípidos. Dicha resistencia también se pierde con la alteración sónica de células micobacterianas.

Las cepas virulentas de los bacilos tuberculosos forman “cordones serpentinos” microscópicos en los cuales los bacilos acidorresistentes se encuentran ordenados en cadenas paralelas. La formación de cordones está relacionada con la virulencia. A partir de bacilos virulentos se ha extraído, con éter de petróleo, un “factor formador de cordones” (trehalosa -6,6'-dimicolato). Este inhibe la migración de los leucocitos, provoca granulomas crónicos y puede servir como un “adyuvante” inmunológico.

2.1.2. Proteínas

Cada tipo de mico bacterias contiene varias proteínas responsables de la reacción a la tuberculina. Las proteínas, unidas a una fracción cética, pueden mediante inyección inducir sensibilidad a la tuberculina. También provocan la formación de diversos anticuerpos.

2.1.3. Polisacáridos

Mycobacterium tuberculosis contiene diversos polisacáridos. Su función en la patogenia de enfermedad es incierta; pueden inducir hipersensibilidad del tipo inmediato y servir como antígenos en reacciones con sueros de personas infectadas. (2) Jawetz Ernest 2000.

2.1.4. Patogenia

El *Mycobacterium tuberculosis* es transportado en aerosoles infecciosos de entre 1 - 5 micrómetros de diámetro. Estos se depositan en las vías aéreas distales más allá de los bronquiolos terminales. La enfermedad es producida por el establecimiento y la proliferación de microorganismos virulentos y las interacciones con el huésped. Los bacilos avirulentos inyectados (por ejemplo, BCG), sólo sobreviven por meses o años en el huésped normal. La resistencia y la hipersensibilidad del huésped influyen grandemente en el curso de la enfermedad. La micobacteria luego se multiplica y es fagocitada por los macrófagos. Pueden continuar dividiéndose en el macrófago o permanecer inactivos por varios años. Algunos microorganismos también son llevados hacia otros órganos incluyendo el hígado, el bazo, las meninges y los riñones. Las zonas pulmonares superiores son lugares de acantonamiento favorecidos; la causa exacta sigue sin ser clara, pero los microorganismos parecen prosperar en un ambiente con alta concentración de oxígeno. Los macrófagos procesan y presentan los antígenos micobacterianos a los linfocitos. El huésped organiza comúnmente una respuesta inmune celular (linfocítica) en 4-9 semanas, con la fagocitosis y depuración de los microorganismos hacia los ganglios

linfáticos regionales en los que normalmente es contenida la infección. Se ha denominado complejo de Ghon a la combinación de uno o más ganglios hiliares y un foco tuberculoso en la periferia pulmonar. Las células T persisten en el cuerpo por mucho tiempo después de la infección inicial; estas células T se dividen y liberan linfoquinas cuando el individuo vuelve a tomar contacto con el *Mycobacterium tuberculosis* o con antígenos derivados de su pared celular. A lo largo del tiempo pueden calcificarse pequeños focos granulomatosos del parénquima pulmonar o los ganglios linfáticos regionales y pueden aparecer en las radiografías de tórax como pequeñas calcificaciones lisas (menor a 1 cm.).

La infección inicial se conoce como tuberculosis primaria. En muchos individuos, la infección primaria es asintomática, pero más del 10 % puede progresar hacia el desarrollo de una enfermedad clínica luego de la infección inicial. La tuberculosis secundaria (también conocida como reactivación) puede desarrollarse varios años más tarde. Los *Mycobacterium tuberculosis* que han estado inactivos dentro de los macrófagos, de los ganglios linfáticos o en otras partes del sistema mononuclear fagocítico se multiplican y pueden causar una enfermedad severa (incluyendo la muerte) en estos individuos.

En este tipo, la tuberculosis ocurre comúnmente como lesiones fibrocavitarias en las zonas superiores del pulmón sin un agrandamiento marcado de los ganglios linfáticos hiliares.

Los individuos sanos comúnmente pueden luchar contra la Tuberculosis con su sistema inmune y solamente una pequeña minoría desarrolla la enfermedad clínica. Los factores de riesgo incluyen a las edades extremas, la malnutrición, el alcoholismo, la malabsorción, la gastrectomía, el tratamiento con altas dosis de glucocorticoides y la administración de quimioterapia citotóxica. La infección por HIV es una causa muy importante de inmunosupresión. También se encuentran en riesgo los pacientes con otras enfermedades pulmonares entre las que se incluye a la silicosis. Las condiciones de vivienda en hacinamiento y la falta de una ventilación adecuada, aumentan el riesgo de transmisión de la enfermedad.

Se ha informado de brotes epidémicos a bordo de barcos en los que un solo caso infectó a una gran cantidad de personas debido a que estaban respirando aire reciclado; se sabe bien que las prisiones son lugares de rápida diseminación de la enfermedad.

Los pacientes generalmente tienen síntomas constitucionales entre los que se incluyen:

- malestar general
- fiebre
- sudores nocturnos
- anorexia
- tos
- hemoptisis

Algunos pacientes pueden presentarse con un cuadro febril agudo con colapso sistemático debido a que han tenido una rápida diseminación hematógena de los microorganismos. Esto se denomina tuberculosis miliar y a menudo es fatal.

Los pacientes con Tuberculosis frecuentemente tendrán signos de consunción y malnutrición; a menudo tienen signos de neumonía en los pulmones y también pueden tener derrames pleurales. Otros hallazgos radiológicos en el tórax incluyen a las lesiones cavitarias, áreas de consolidación, ganglios linfáticos hiliares calcificados y derrames pleurales.

2.1.5. Micobacterias atípicas

Estos microorganismos se hallan en muchas fuentes ambientales, pero generalmente solo causan enfermedad en los individuos ancianos con pulmones dañados o en aquellos con alguna forma de inmunosupresión; raramente causan enfermedad pulmonar por sí mismos en algunos individuos inmunocomprometidos puede necesitarse un curso de terapia prolongado para erradicar a estos microorganismos. Las infecciones micobacterianas atípicas encontradas comúnmente incluyen a las causadas por el complejo

Mycobacterium avium-intracellulare (MAC) en los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), o la infección por Mycobacterium kansasii en los pacientes con enfisema bulloso. (3) Luna Carlos 2001.

2.2. DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS

2.2.1. Examen Radiológico

Es sensible, pero poco específico para el diagnóstico de la Tuberculosis pulmonar. Existen algunos patrones como la captación o el patrón miliar, pero en general las técnicas de imagen son útiles para establecer la sospecha inicial.

2.2.2. Examen Anatomopatológico.

El patrón histológico de la infección por Mycobacterium tuberculosis es muy característico. Aparecen granulomas con necrosis central (caseificación) en lo que puede encontrarse bacilos mediante tinciones específicas.

2.2.3. Prueba de La Tuberculina

Consiste en inyectar en el tejido subcutáneo un extracto que contiene antígenos del bacilo de Koch pero no el bacilo entero, por lo que no puede producir infección. Si una persona tiene anticuerpos contra el bacilo de Koch tendrá una reacción cutánea a los 2 a 3 días en el lugar de inoculación caracterizada por induración, eritema y calor.

Si se produce esta reacción significa que el sujeto ha estado en contacto con el bacilo en algún momento de su vida. No quiere decir que exista una infección en el momento de la prueba, pero si las circunstancias clínicas son adecuadas puede ayudar a establecer el diagnóstico.

2.2.4. Técnica De Diagnostico Molecular Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La clonación de una molécula, es bastante tedioso, desde la obtención hasta la introducción de la misma en una célula que permita su amplificación, sin embargo, con la aparición del PCR este procedimiento se simplificó en una reacción in vitro, que tiene un rendimiento de millones de copias de la molécula deseada.

En una reacción de PCR, se necesitan un ADN molde, oligonucleotidos como cebadores, desoxinucleotidos (dNTPs) como sustrato, la enzima ADN Polimerasa, e iones divalentes como el magnesio como cofactores enzimáticos.

La amplificación se basa en síntesis continua de muchas hebras de ADN, que se llevan a cabo exponencialmente y en proporción a ciclos de reacción, comúnmente se llevan 20 a 30 ciclos.

Cada ciclo de PCR comprende 3 etapas:

1° etapa : Desnaturalización, a 95° C, en la que separa la doble hebra de ADN, para que las moléculas estén listas para la siguiente etapa.

2° etapa : Alineamiento de los cebadores (primers) a los extremos de la molécula molde para que la ADN Polimerasa pueda actuar sobre la hebra simple hibridizada con los cebadores y tomarla como molde. La temperatura en esta etapa varía de acuerdo a la composición de la secuencia de los cebadores y la especificidad que se desee.

3° etapa : Polimerización, a 37° C cuando se usa ADN Polimerasa proveniente de E. coli a 72° C, temperatura a la cuales activa la Taq Polimerasa. En esta etapa la enzima Polimerasa una nueva hebra, como resultado se tendrá el doble de moléculas.

Estas etapas se repiten varias veces para que se obtenga millones de copias de esta molécula.

Con esta técnica, prácticamente cualquier segmento de ADN de una bacteria, hongo o virus puede ser amplificado y detectado. Sin embargo, los laboratorios deben analizar varios factores, entre los cuales destaca la aplicación clínica que podría tener la detección de un determinado organismo, así como los costos, sensibilidad y especificidad del examen en comparación con las técnicas tradicionales.

En general, las técnicas de diagnóstico molecular están indicadas cuando un organismo no puede ser cultivado in vitro, o cuando requiere de un medio complejo y largos periodos de incubación.

Un organismo que cumple los requisitos descritos es el *Mycobacterium tuberculosis* y es por ello que existen numerosas técnicas de amplificación disponibles comercialmente. (9) Sánchez Rolando, 2003.

2.2.5. Cultivo De Micobacterias

Si bien se otorga la máxima prioridad a la baciloscopia, el cultivo de la expectoración de personas con lesiones radiológicas sospechosas y baciloscopia negativa, puede lograr un diagnóstico precoz y más frecuente.

- El cultivo es en la actualidad el método bacteriológico más sensible y específico disponible para realizar el aislamiento y tipificación de micobacterias, como *Mycobacterium tuberculosis* de muestras clínicas tanto pulmonares como extrapulmonares.
- Esta técnica permite aislar las micobacterias para poder realizar pruebas bioquímicas, enzimáticos y pruebas de sensibilidad y resistencia.

2.2.5.1 Condiciones Básicas Para Solicitar Cultivo

El cultivo se realizará selectivamente con el siguiente orden de prioridades:

- En el diagnóstico de tuberculosis pulmonar, de sintomáticos respiratorios con baciloscopias de esputo seriadas negativas y cuadro clínico sugestivo de tuberculosis.

- Diagnóstico y confirmación de tuberculosis infantil.

- Diagnóstico y confirmación de tuberculosis extrapulmonar.

- Estudios de Sensibilidad a los medicamentos antituberculosos en muestras de pacientes con sospecha de fracaso del esquema único de tratamiento, por persistencia o reaparición de baciloscopia positiva de esputo al término del quinto mes de tratamiento.

- En pacientes multitratados (con varios retratamientos incompletos) con persistencia de baciloscopia positiva.

- Para estudios epidemiológicos de resistencia primaria y secundaria de *Mycobacterium tuberculosis* a medicamentos anti-tuberculosos.

2.2.5.2. Medios De Cultivo

Los medios de cultivo, que se utilizan en los laboratorios que efectúan aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* de la Red Nacional de Laboratorios. Son los que están elaborados a base de huevo: Lowenstein Jensen y medio de Stonebrink, estos deben ser cuidadosamente controlados antes de ser utilizados.

2.2.5.3. Muestras Utilizadas Para Aislamiento De Micobacterias

Las muestras de las que se puede aislar diversas micobacterias pueden ser desde el punto de vista de su obtención muestras obtenidas asépticamente como líquidos de punción: líquido céfalo raquídeo, líquido pleural, líquido articular, líquido pericárdico, las mismas deben sembrarse directamente en tubos con medio de cultivo.

Otras muestras utilizadas son: orina, aspirado gástrico, heces fecales, biopsias, las mismas están naturalmente contaminadas por lo que requieren ser sometidas a procesos de recontaminación.

2.2.5.4. Procedimiento Para Muestras Contaminadas

Las muestras contaminadas tales como esputo, orina, contenido gástrico entre otras, deben ser decontaminadas antes del cultivo.

En caso de las muestras de orina se recomienda la primera micción de la mañana durante tres días seguidos.

En muestras de sangre menstrual, se procede a efectuar el cultivo recibiendo sangre del 2º día de menstruación.

Las muestras de esputo, contenido gástrico y otras deben ser procesadas luego de su recolección en el más breve tiempo posible. (1) INLASA, 2002.

2.2.6. Baciloscopia

En los países de escasos recursos económicos y con alta prevalencia de tuberculosis, el examen microscópico directo de esputo o baciloscopia, es y seguirá siendo, en un futuro previsible, la única herramienta con buena relación costo-eficacia para el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento de los pacientes con tuberculosis contagiosa.

Como este examen es fácil de realizar, puede lograrse una amplia cobertura de la población y, dada la situación epidemiológica de los países de América Latina, sirve de apoyo importante para los programas de control de la tuberculosis. Esto se debe a las siguientes razones:

- Es rápido, el médico puede obtener el resultado al día siguiente de recibirse la muestra en el laboratorio y en casos excepcionales a los pocos minutos.
- Es económico y su costo es varias veces inferior al de cultivo.
- El material y el equipo que se necesitan cuestan poco y son fáciles de transportar.
- Requiere poco personal y su adiestramiento es rápido.
- El porcentaje de posibilidades de encontrar el germen en enfermos que tienen lesiones moderadas o avanzadas es alto.
- Si el examen se hace sobre una muestra de origen humano, la posibilidad de que los bacilos ácido-alcohol resistentes descubiertos sean bacilos de Koch es muy alta.
- El recuento semicuantitativo de los gérmenes proporciona al médico información importante sobre la extensión de la lesión, ya que en enfermos que nunca han sido tratados hay una relación directa entre la extensión de la lesión y la abundancia de la eliminación bacilar.
- El recuento semicuantitativo también da al médico una medida de la eficacia de la asociación medicamentosa que está usando, cuando se sigue periódicamente la eliminación bacilar durante el periodo del tratamiento. (6) OPS 1994.

2.2.6.1. Funciones del laboratorio

En los países en desarrollo la mayoría de los diagnósticos bacteriológicos de tuberculosis se realiza en laboratorios locales o periféricos cuya responsabilidad principal es la de efectuar las baciloscopías para el PNT (Programa Nacional de Tuberculosis), examen microscópico de diagnóstico basado en el examen directo de extendidos de esputo después de su tinción con la técnica de Ziehl-Neelsen. Estos laboratorios, ubicados en los centros de salud, postas de salud, hospitales, etc. En general, cuentan con personal técnico especializado capaz de realizar las baciloscopías, entre otras tareas.

Estos laboratorios deben poder realizar las siguientes funciones:

- Realizar las baciloscopías solicitadas en el área asignada, habitualmente una Red de Salud.
- Servir de centro de referencia para las unidades de recolección de muestras.
- Coordinar con los Laboratorios Regionales (intermedios), la referencia de las muestras que requieren cultivo y pruebas de sensibilidad.
- Recibir las muestras durante las horas de atención del Centro de Salud.
- Enviar la información al Laboratorio Regional.
- Cumplir las directivas nacionales de control de calidad.
- Pedir, adiestrar y almacenar el material de laboratorio. (4) Ministerio de Salud y Previsión Social, 1999.

2.2.6.2. Acondicionamiento físico del laboratorio

Los detalles del acondicionamiento del laboratorio de baciloscopia variarán considerablemente según las condiciones locales.

Es difícil dar normas generales acerca del diseño del laboratorio, puesto que, con el tiempo, en muchos países, éstos han sido integrados en los servicios de diagnóstico generales.

Idealmente, el laboratorio de baciloscopia para el diagnóstico de la tuberculosis debe incluir las siguientes secciones independientes:

- Un espacio para una mesa, para depositar las muestras que llegan.
- Una mesa bien iluminada, para la preparación de los frotis.
- Una pila o cubeta para la tinción, con agua corriente.
- Una pila o cubeta con agua corriente para el lavado de las manos.
- Una mesa para el examen microscópico, delante una ventana.
- Una mesa para los libros de registro y el almacenamiento de los frotis.
- Un guardarropa o armario cerrado, para la ropa del personal.

Si el mesón de trabajo está echo con material poroso, debe cubrirse con una placa de material no poroso como fórmica, metal galvanizado o aluminio; esta placa debe tener alrededor de 80 cm. de ancho y bordes de 5 cm. de alto. El borde anterior debe doblarse hacia abajo en un ángulo de 90° para ajustarse al borde de la mesa, lo que facilitará las manipulaciones. Todas estas manipulaciones deben realizarse sobre esta superficie, la que debe ser descontaminada todos los días después de su empleo con un germicida antituberculoso (por ej. fenol al 5% o una solución de hipoclorito de sodio al 0,1%)

2.2.6.3. Material necesario

- Porta-láminas para la preparación de los frotis.
- Secador para los extendidos.
- Envase de esputo colocado lo más cerca posible a la derecha del porta-láminas.
- Aplicadores de madera.
- Lámpara de alcohol/ mechero de Bunsen.
- Pinzas.
- Receptáculo metálico para desperdicios, con tapa, para depositar el material contaminado.
- Caja de láminas grabadas para los extendidos. (6) OPS, 1994.

2.2.6.4. Preparación de los reactivos para el método de tinción de Ziehl – Neelsen

El método más apropiado de coloración para el examen microscópico directo de esputo es el de Ziehl-Neelsen, puesto que es el único que da regularmente buenos resultados, sin necesidad de un equipamiento especial. Para la preparación de los reactivos necesarios se requiere una balanza, que no se encuentra siempre disponible en los laboratorios periféricos.

La solución más frecuente es la preparación de los reactivos en el LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA o en el laboratorio intermedio más

cercano. La ventaja de esta solución es la mejor estandarización y garantía de calidad, que son más importantes que la desventaja de un almacenamiento más prolongado.

La preparación de cada reactivo es la siguiente:

2.2.6.4.1. Fucsina Fenicada

Fucsina básica..... 3 gramos

Alcohol etílico de 95° 100 ml.

Disolver por agitación y dejar reposar durante toda la noche, agregar fenol acuoso al 55 ml

Agitar y agregar agua destilada hasta completar un litro: dejar reposar 24 horas.

El fenol acuoso se prepara agregando 100 ml de agua destilada a 1000 gramos de fenol cristalizado, previa disolución en baño María.

2.2.6.4.2. Alcohol Ácido

Ácido clorhídrico..... 30 ml

Alcohol etílico de 95° 970 ml

Dejar escurrir el ácido por las paredes lentamente hasta completar el volumen de un litro (No pipetear el ácido)

2.2.6.4.3. Azul De Metileno

Azul de metileno..... 1 gramo

Alcohol etílico de 95° 100 ml

Disolver por agitación y agregar agua destilada hasta completar un litro, dejar reposar 24 horas.

Los reactivos deben conservarse en frascos de color ámbar se recomienda preparar los colorantes en cantidades para un consumo no mayor de un mes. (1) INLASA, 2002.

2.2.6.5. Toma de muestras

Cuando la expectoración sea escasa o nula, el personal debe recurrir a métodos especiales, los más importantes de los cuales son el hisopado laríngeo y el lavado gástrico. Existen además otros procedimientos como el lavado bronquial y la inducción del esputo, pero son más complicados y sólo pueden emplearse en servicios especializados, por lo cual la utilidad práctica es muy limitada.

2.2.6.5.1. Hisopado laríngeo

Este es un procedimiento que permite obtener en un hisopo de algodón las pequeñas partículas de secreción que se eliminan a través de la laringe cuando se hace un esfuerzo de tos. Está indicado sólo para enfermos adultos asintomáticos, con imágenes radiológicas pulmonares anormales, y especialmente para niños, en los que las secreciones bronquiales no llegan a constituir un esputo.

2.2.6.5.2. Lavado gástrico

Este es un método de poca utilidad práctica pero que se destina especialmente a personas que degluten sus secreciones bronquiales, algunos porque no saben expectorar y otros porque son enfermos con alteraciones neurológicas o psíquicas o niños de corta edad.

Los individuos normales que tienen expectoración eliminarán sus secreciones bronquiales sin tener que retirárselas del estómago después de deglutidas, si previamente se les ha instruido sobre la manera de hacerlo.

Hay ciertos hechos importantes que deben considerarse en relación con este examen:

- Debe hacerse siempre en ayunas al despertar.
- Se efectúa la extracción en la mañana, antes de que el material deglutido pase al duodeno debido a los movimientos peristálticos del estómago. Por este motivo no debe realizarse la extracción del contenido gástrico en enfermos ambulatorios que deben recorrer una gran distancia para llegar al servicio de salud.
- El material debe enviarse al laboratorio con la mayor brevedad posible y siempre dentro de las cuatro primeras horas de extraído, porque a veces su acidez es muy alta, la que daña la viabilidad del germen. Un mayor tiempo obligaría a neutralizar previamente el material con una solución de carbonato de sodio al 10% o fosfato trisódico anhidro al 10%; si esta sal contiene 12 H₂O la solución debe ser al 23 %; en todos los casos la neutralización se hará en presencia de un indicador de pH.
- Es posible hacer un examen microscópico directo del sedimento obtenido después de la centrifugación, o de las partículas purulentas que flotan sobre el líquido extraído, pero los riesgos de confundirse con micobacterias saprofitas son mayores que con la muestra de expectoración, por lo cual se recomienda cultivar siempre este tipo de muestra.

2.2.6.5.3 Orina

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

Se debe esperar que sedimento manteniéndola en reposo de una a dos horas después de haber sido remitida al laboratorio posteriormente es concentrado por centrifugación.

2.2.6.5.4. Pus

Esta muestra puede considerarse como la de expectoración para el estudio baciloscópico, pero como por lo general contiene pocos bacilos, se recomienda sembrarla previo tratamiento si es de cavidad abierta, o sin tratamiento previo en caso contrario.

2.2.6.5.5. Materias fecales

Debido a que la presencia del *Mycobacterium tuberculosis* en las heces no necesariamente indica tuberculosis intestinal, ya que puede tratarse de gérmenes deglutidos por el enfermo con su esputo, se considera de poco interés este examen.

2.2.6.5.6. Líquido cefalorraquídeo y de otras serosas

Estas muestras deben recibirse en envases esterilizados para sembrarlas de inmediato y sin previo tratamiento, porque como son muy pobres en micobacterias, cualquier tipo de manipulación significará que se disminuirá aún más la cantidad de estos gérmenes. Una vez obtenida la muestra, se debe hacer primero una valoración macroscópica, para luego inmediatamente proceder a su concentración a través de la centrifugación.

Así podemos obtener muestras de todos los segmentos susceptibles de contener BAAR; no olvidándonos que muchas de las muestras son candidatas para estudio anatómo-patológico que también nos mostrará lesiones sugestivas de etiología micobacteriana.

2.2.6.5.7. Biopsias y material resecado

En estas muestras es útil efectuar en forma paralela el examen bacteriológico y el histológico; para el primero se enviará la mitad de la muestra en un envase con agua o suero fisiológico esterilizado y para el segundo la otra mitad en un envase con formalina al 10%.

Se ha pensado que en los casos de enfermos que están recibiendo medicación antituberculosa la droga circulante que se elimina a través de las mucosas llegará a la muestra e interferirá con la investigación del germen, lo que podría obligar a suspender el tratamiento durante algunos días antes de tomar la muestra.

Si pequeña cantidad de droga que pueda contener la muestra no influye sobre la positividad del examen bacilosκόpico, ya que gérmenes vivos o muertos se tiñen en igual forma con la técnica de Ziehl-Neelsen.

Desde un punto de vista operativo el procedimiento más adecuado es el siguiente:

Para el diagnóstico etiológico se enviarán las muestras antes de iniciar la terapéutica.

Para el control bacteriológico de la evolución de la enfermedad no debe suspenderse el tratamiento, ya que esta puede seguirse eficazmente sólo mediante el examen bacilosκόpico. (6) OPS, 1994

2.2.6.5.8. Muestras de esputo para el diagnóstico

En las condiciones de trabajo del PNT, la VICTER recomienda la recolección de tres muestras de esputo, en el momento de la consulta, matinal al despertarse en el domicilio y nuevamente en el momento de la consulta, cuando el paciente vuelve con la muestra recolectada en el domicilio.

El mayor riesgo de infección en el laboratorio involucra la recolección del esputo. La preparación de los extendidos representa menos riesgo para el personal de laboratorio que una exposición directa a la tos.

Ya que algunas veces los pacientes con Tuberculosis van al laboratorio para la toma de muestras de esputo, deben tomarse precauciones para minimizar el riesgo de contagio.

Nunca tome muestras de esputo dentro de la clínica o laboratorio.

Las muestras deben recolectarse de preferencia en un período de dos días, para todas las personas que se presentan a los centros de salud, a los dispensarios del hospital, etc., con síntomas respiratorios durante más de tres semanas. Estas muestras deben ser examinadas al microscopio en el laboratorio más próximo. Bajo estas condiciones, se define un caso de tuberculosis con baciloscopia positiva, como la persona que se presenta con síntomas respiratorios y que tiene por lo menos dos baciloscopias positivas.

Este método, llamado también detección pasiva, detecta alrededor del 80% de los casos sospechosos que finalmente son considerados con baciloscopia positiva, con el examen de la primera muestra, un 15 % adicional con el de la segunda y el 5 % restante con el de la tercera.

2.2.6.6. Muestras de esputo para el seguimiento

El tratamiento de la tuberculosis comprende dos fases: la fase intensiva, que dura habitualmente 2 ó 3 meses y la fase de continuación que dura de 4 a 8 meses, dependiendo del tipo de tratamiento, se debe recolectar una muestra matinal para seguimiento, al final de la fase intensiva para determinar si negativa o, si ésta es positiva, continuar la fase intensiva. Se debe tomar otra muestra del esputo al 5to mes el paciente puede pasar a la fase continuación, si la baciloscopía es la fase de continuación, para detectar un posible fracaso del tratamiento y otra muestra al final del tratamiento para confirmar la curación. A menudo, las muestras al final del tratamiento no se obtienen fácilmente, debido a que el paciente ya no expectora. El esquema exacto de baciloscopias de seguimiento varía según los esquemas de tratamiento y debe ser precisado en el manual del PROGRAMA NACIONAL DE TUBERCULOSIS. (5) OMS, 2000.

2.2.6.7. Recolección de las muestras de esputo

El personal de salud debe despertar confianza en el paciente sospechoso de tuberculosis, explicándole las razones del examen y la manera de toser, de forma que el esputo provenga de lo más profundo de su pecho. Si el paciente puede leer, se le pueden dar además instrucciones por escrito.

Una buena muestra de esputo es la que proviene del árbol bronquial, obtenida después de un esfuerzo de tos y no la que se obtiene exclusivamente de la faringe o por aspiración de secreciones nasales o sólo saliva.

El personal de salud debe asegurarse que la muestra tiene un volumen suficiente (3 a 5 ml) y que contenga material sólido o purulento y no solamente saliva, para aumentar la sensibilidad de la detección. Sin embargo, si sólo se obtiene saliva o, como sucede a menudo en la toma de muestra “en el momento de la consulta”, si el volumen es inferior a 3 ml, de todas maneras la muestra debe ser examinada, pues a veces da resultados positivos.

La muestra debe ser clasificada por examen macroscópico como salival cuando contiene principalmente saliva, mucosa cuando contiene principalmente moco, purulenta, cuando hay partículas amarillentas visibles en el moco y sanguinolentas cuando contiene sangre.

Siempre debe anotarse la presencia de sangre, porque puede indicar una enfermedad grave y puede interferir en la lectura de la baciloscopia.

El personal de salud debe entregar los envases marcados con el código del centro de salud y la identificación del paciente o sospechoso de tuberculosis debe ser escrito en las paredes del envase y nunca en su tapa. (7) OPS, 1997.

La muestra obtenida se llama muestra “en el momento de la consulta”.

Si no hay producción de esputo, el envase debe ser considerado como utilizado y ser procesado como tal, según las normas.

El envase debe ser cerrado en forma segura y, si debe ser enviado a un laboratorio cercano, debe ser colocado en una caja especial para su transporte. Las muestras recolectadas deben ser etiquetadas, guardadas en un lugar fresco y transportado sin demora, es decir, por lo menos dos veces por semana y examinadas al microscopio dentro de las 24 horas.

En situaciones muy particulares en que las estructuras de salud que disponen de microscopio están alejadas de los centros de salud, la expectoración también puede ser procesada en el centro de salud y enviarse los extendidos (frotis) ya preparados y fijados al laboratorio más cercano. Sin embargo, este procedimiento no es aconsejable, puesto que los frotis fijados, preparados por un personal no entrenado son generalmente de mala calidad y tienen tendencia a descomponerse rápidamente en los climas cálidos y húmedos.

El personal de salud debe entregar a la persona sospechosa de tuberculosis un nuevo envase etiquetado, explicándole que es para ser usado la mañana siguiente, para recolectar la muestra MATINAL y debe mostrarle cómo cerrarlo antes de traerlo de vuelta al centro de salud.

2.2.6.8. El envase de recolección de esputo

Aun cuando parecería útil que en cada país se pueda contar con un envase estándar, esto no siempre es factible y es preciso recurrir a envases utilizados para otros fines comerciales. A fin de facilitar la selección de estos envases se anotan a continuación ciertas características básicas. Se recomiendan que sean:

- Desechables, con lo cual se evitarán errores de laboratorio, ya que por lo general los no desechables se lavan mal y aunque se esterilicen conservan bacilos muertos que se colorean con la fucsina en la misma forma que los vivos.

- De boca ancha, alrededor de 50 mm de diámetro, para que el enfermo pueda expectorar fácilmente dentro del mismo y para que se pueda tomar una partícula útil al hacer el examen.
- No demasiado altos, alrededor de 40 mm y con paredes inclinadas para lo cual la diferencia entre el diámetro de la boca y el de la base será de 10 mm; esto permite la fácil introducción de los aplicadores de madera para elegir la partícula útil; además, cuando se distribuyen en grandes cantidades a los diferentes servicios, pueden ir uno dentro del otro cuando se les quita la tapa y ocupan menos espacio.
- De preferencia de material plástico transparente porque, además de ser livianos, son fáciles de incinerar y su transparencia permite saber si la muestra es suficiente sin destaparlos.
- De cierre hermético, con tapa de rosca.
- Fáciles de marcar o rotular en sus paredes. No debe marcarse en la tapa, porque cuando se quite esta en el laboratorio para elaborar la muestra, el envase pierde su identidad.
- De capacidad que puede variar entre 35 y 50 ml

Se recomienda el siguiente envase de la UNICEF, que es apropiado para la recolección y el transporte de la muestra de esputo:

No 0932530 (Registro del UNICEF) Frasco desechable para la recolección de esputos, con tapa roscada. Fabricado con polietileno opalescente; mide 49 mm de altura, y su diámetro disminuye desde 50 mm en la parte superior hasta 40 mm en su base. La capacidad es de cerca de 56 ml. Sobre este material se puede escribir con lápiz dermatográfico.

Este frasco puede adquirirse a través de la Oficina Sanitaria Panamericana. (6) OPS, 1994.

El otro, es un frasco de vidrio pesado, con tapa de rosca de tipo “frasco universal”. Estos frascos pueden volver a utilizarse después de limpieza cuidadosa y desinfección en autoclaves durante 30 minutos a 121° C. Si no se dispone de autoclave, se recomienda una olla a presión de tipo doméstico.

Cualquiera sea el tipo de envase utilizado, si deben ser transportados, se recomienda hacerlo en cajas de metal, madera o poliestireno, fabricados especialmente. Una caja de madera es una buena solución de compromiso en términos de solidez y peso.

2.2.6.9. Transporte de las muestras de esputo

En los países que carecen de recursos de laboratorio y que han establecido unidades de recolección de muestras, el transporte de las muestras es indispensable. También es necesario este transporte cuando se han emprendido proyectos de investigación operacional que interesan al PNT, tales como estudios de resistencia a los medicamentos.

Si se requiere hacer cultivos de las muestras, éstas deben llegar al laboratorio dentro de los 3-4 días y deben ser refrigeradas mientras esperan el envío. Debe seleccionarse el medio de transporte con la mejor relación costo – eficacia. La flora de contaminación no afecta la ácido-resistencia de las micobacterias, pero puede licuar el esputo haciendo difícil la preparación del extendido, lo que hace la lectura menos fiable.

El envío debe ser acompañado de una lista que identifica las muestras de esputo contenidas en la caja de transporte y de un formulario de Pedido de examen de expectoración para cada muestra. Antes del envío, el personal del centro de salud debe verificar para cada caja de transporte que:

- El número total de envases de la caja de transporte corresponde al de la lista que la acompaña y a los formularios de Pedido de examen de expectoración
- El número de identificación de cada envase corresponde al de la lista y al del formulario de Pedido de examen de expectoración.

- Los formularios de Pedido de examen de expectoración contienen la información requerida para cada persona sospechosa de tuberculosis.

Una vez que esta verificación ha sido realizada, el personal de salud debe:

- Poner la fecha en la lista.
- Poner la lista y los formularios de Pedido de examen de expectoración en un sobre que será fijado al exterior de la caja de transporte.

2.2.6.10. Registro del paciente

Toda la información contenida en el formulario Pedido de examen de expectoración debe ser transcrita en forma completa en los espacios correspondientes del Registro del Laboratorio de la Tuberculosis.

Debe anotarse toda la información solicitada, es decir que, un espacio en blanco no corresponde a un olvido de registro, sino a la ausencia de información.

El registro del Laboratorio de la VICTER tiene dos características esenciales y útiles; distingue entre baciloscopia para el diagnóstico y baciloscopia para el seguimiento del tratamiento y asigna una sola línea para cada persona sospechosa de tuberculosis examinada y no para cada muestra de esputo examinada.

Esto permite el cálculo de la tasa de casos con baciloscopia positiva entre los sospechosos, la cual a su vez permite planificar los requerimientos de material de laboratorio, basados en el número de casos positivos informados.

La información de cada muestra debe ser completa, precisa e incluir:

- El número de serie del laboratorio.
- La fecha de recibido.

- El nombre del paciente, sexo, edad y dirección.
- El nombre de la institución de salud.
- La razón para el examen (ya sea como diagnóstico o como seguimiento de quimioterapia)
- Etiquete correctamente el recipiente con el número asignado a la muestra.

El número de serie del Laboratorio comienza con el 1 el 1° de enero de cada año y aumenta con cada paciente hasta el 31 de diciembre del mismo año.

2.2.6.11. Identificación de láminas

Identifique correctamente cada portaobjetos con los números del laboratorio y de la muestra. Use un lápiz de grafito y marque estos números en el extremo esmerilado de cada portaobjetos.

Si el portaobjetos es de vidrio no esmerilado, escriba con lápiz de diamante los números correspondientes del laboratorio. Nunca use un lápiz grasoso, ya que las marcas pueden desaparecer durante el proceso de tinción. (5) OMS, 2000.

2.2.6.12. Confección del extendido

Los envases con las muestras de esputo deben ser dispuestos según el orden de secuencia. El número de serie del laboratorio debe coincidir con la información correspondiente inscrita en el formulario de Pedido de examen de expectoración que los acompaña.

Se recomienda la utilización de láminas nuevas para los frotis, sin embargo como éstas a menudo son grasosas, tienen tendencia pegarse y deben ser limpiadas con alcohol y cuidadosamente secadas al aire. Cuando no se dispone de alcohol, las láminas pueden ser flameadas para extraer los aceites. En las condiciones climáticas prevalentes en la mayor parte de los países de escasos recursos, se recomienda la utilización de láminas empaquetadas a la manera tropical (cada lámina separada de la siguiente por una tira de papel impermeable) El número del código del laboratorio, el

número de serie y el identificador de la secuencia de las muestras pueden gravarse con un marcador de diamante a los lados del frotis, en un extremo de la lámina.

- Verificar la concordancia entre el número de las láminas y el de los envases.
- Tomar el envase correspondiente al número de la lámina.
- Abrir cuidadosamente en envase para evitar la producción de aerosoles infectantes.
- Quebrar un aplicador de madera o de bambú, elegir partículas amarillas (purulentas) del esputo con el extremo quebrado del aplicador. Utilizar al mismo tiempo las dos puntas quebradas del aplicador para desmenuzar las partículas más grandes.
- Esparcir el esputo regularmente sobre el área central de la lámina con un movimiento continuo de rotación; la dimensión recomendada del extendido es de alrededor de 20 mm por 10 mm.
- Colocar las placas sobre el secado con la superficie donde se encuentra el extendido hacia arriba y dejar secar al aire durante 30 minutos aproximadamente.
- Volver a cerrar el envase el cual no debe ser eliminado antes que los resultados sean leídos y registrados.
- Los aplicadores pueden ser utilizados una sola vez. Para eliminarlos colocarlos en un receptáculo de desperdicios que contenga una solución acuosa de fenol al 5% o una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% y luego pasarlos al autoclave o al incinerador.

2.2.6.13. Fijación del extendido

Una vez secada la lámina fijar el extendido, mediante 2 o 3 pasajes rápidos sobre la llama del mechero con el extendido hacia arriba.

2.2.6.14. Coloración (Técnica Ziehl – Neelsen)

La técnica más recomendada es la tinción de Ziehl – Neelsen antes de su uso, todos los colorantes deben ser previamente filtrados.

- Colocar sobre el soporte de coloración las láminas fijadas, con el extendido hacia arriba.

- Cubrir la totalidad de superficie del extendido con el colorante fucsina fenicada.
- Calentar suavemente con un hisopo de algodón humedecido con alcohol hasta la emisión de vapores, repetir el proceso por tres veces.
- No debe hervir la preparación.
- Si el volumen del colorante disminuye por evaporación, cubrir nuevamente con el colorante el extendido.
- El tiempo mínimo de coloración con la fucsina fenicada es de 5 minutos.
- Luego lavar la lámina, inclinándola hacia delante dejando caer agua corriente a baja presión.
- Remover el exceso de agua de enjuague de las láminas. El extendido de esputo aparece de color rojo.

2.2.6.15. Decoloración

Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la solución de alcohol-ácido (ácido clorhídrico) al 3% hasta obtener una coloración rosa pálida. De ser necesario añadir más solución decolorante, nuevamente, pero evitar un exceso de decoloración.

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

2.2.6.16. Coloración de fondo

Cubrir la superficie del extendido con el colorante azul de metileno, durante 30 segundos y no más de 3 minutos.

Eliminar el azul de metileno y lavar cada lámina a baja presión, por ambos lados.

Colocar las láminas coloreadas en orden numérico sobre el soporte de madera y dejar secar al medio ambiente. (1) INLASA, 2002.

2.2.6.17. Calidad del extendido y la muestra

Un extendido correctamente teñido debe mostrar un color azul claro, debido al azul de metileno. Si el color es demasiado oscuro, es decir, cuando es imposible leer un texto a través del frotis, significa que el frotis es demasiado espeso.

2.2.6.18. Examen microscópico de los extendidos de esputo

2.2.6.18.1. Uso del microscopio

Cuando no está en uso el microscopio debe guardarse en su estuche o protegerse del polvo con una cubierta de plástico.

Evite exponer el microscopio a la humedad. Esta puede favorecer el desarrollo de hongos en las lentes y causar la oxidación de los componentes metálicos. Para limitar la exposición a la humedad, cuando guarde el microscopio en el estuche coloque también un recipiente de poca profundidad que contenga gel de sílice seco con un indicador higrométrico. Cuando el gel de sílice no puede absorber más humedad cambia de color (de azul a rosado) Cuando ello ocurre el gel de sílice debe reemplazarse o secarse en una estufa de aire circulante y volver a usarse cuando recupera su color original (azul)

Para eliminar las películas delgadas de hongos humedezca un trozo de algodón absorbente en un líquido fungicida apropiado y limpie la lente girando el algodón sobre ella mientras ejerce una ligera presión si fuera necesario, repita la operación con un nuevo trozo del algodón absorbente. Seque la lente con papel absorbente para lentes.

Evite mantener el microscopio en un lugar donde haya reactivos químicos, agua o emisión de gases corrosivos.

Es preciso tomar o llevar el microscopio con ambas manos, una aferrando el brazo firmemente y la otra debajo de la base para lograr un apoyo adicional. Nunca traslade un microscopio con una sola mano.

Instale el microscopio sobre una superficie resistente y nivelada. No coloque equipo o instrumentos que produzcan vibraciones en la misma mesa.

Si el microscopio se utiliza todos los días, no lo retire del lugar donde está instalado, pero cuando no esté en uso, manténgalo cubierto con una cubierta de plástico o polietileno.

La tierra o la arenisca pueden rayar las lentes del microscopio. Estas deben limpiarse solo con papel absorbente para lentes, limpio y seco. No debe usarse género u otros tejidos pues pueden rayar las lentes. No utilice nunca jabón, alcohol u otros solventes para limpiar las lentes.

No deje caer aceite de inmersión sobre la platina. El aceite de inmersión debe eliminarse de los objetivos después de examinar cada portaobjetos para evitar la contaminación cruzada.

Tenga cuidado de que los objetivos para uso seco no entren en contacto con el aceite de inmersión.

Si esto sucediera, límpielos de inmediato.

Nunca debe desarmarse el microscopio. Si presenta algún defecto la reparación debe encomendarse a una persona competente.

Poner una gota de aceite de inmersión sobre el frotis teñido y secado, para aumentar el poder de resolución. No tocar la lámina con el aplicador de aceite para evitar la contaminación con BAAR. No se debe usar aceite de inmersión de cedro, puesto que, después del secado forma una pasta espesa que puede dañar los lentes del microscopio.

Algunos substitutos como el aceite de lino, de palma o de oliva o la parafina líquida, dan resultados muy insuficientes.

Colocar la lámina teñida sobre la platina, con el condensador en su posición más elevada y ajustar la fuente luminosa para obtener el máximo de luz mirando por el ocular, utilizando el objetivo estándar de X 40.

Seleccionar una zona que contenga más leucocitos (células de pus) que células epiteliales (más frecuentes en la saliva) antes de poner la gota de aceite de inmersión.

Bajando lentamente el objetivo de inmersión con el tornillo macrométrico, se formará una fina película de aceite entre el objetivo y la lámina. Completar el enfoque utilizando el tornillo micrométrico. Se debe evitar que el objetivo toque la lámina. (10) Weyer Karin, 1998.

2.2.6.19. Examen de los frotis

Los bacilos ácido- alcohol resistente (BAAR) aparece en color rojo o rosa sobre un fondo de contra tinción azul. Su forma es muy variable (filamentos cortos ligeramente curvos o filamentos alargados); pueden estar teñidos de manera uniforme o desigual y pueden ser más o menos granulosos. Pueden estar aislados, en parejas o agrupados y se presentan típicamente como bastoncitos largos, delgados e incurvados.

La lectura debe hacerse de manera sistemática y estandarizada. Puede comenzar en el extremo izquierdo del frotis. La lectura empieza en la periferia del campo y se termina en el centro. Después de haber examinado un campo microscópico, mover el frotis horizontalmente, de modo de poder examinar los campos vecinos. Enseguida la lámina se desplaza verticalmente para poder leer una segunda fila, de derecha a izquierda.

Hay alrededor de 100 campos microscópicos de inmersión en el eje longitudinal de un frotis de 2 cm. Tres líneas del frotis examinado corresponden a 300 campos microscópicos controlados. La lectura comienza en la periferia del campo y se termina en el centro.

El microscopista debe tomar por menos 5 minutos para leer 100 campos y, cuando trabaja a tiempo completo, no se debe esperar que procese y lea más de 25 frotis por día.

No debe procesar más de 10 a 12 frotis de una sola vez. Sin embargo, esta situación se presenta raramente, incluso en los laboratorios periféricos de los países con alta incidencia. Cuando la baciloscopia para el diagnóstico de la tuberculosis está totalmente integrada en los servicios generales de atención primaria de la salud, el verdadero desafío es llegar a tener un volumen suficiente de trabajo para mantener la competencia necesaria para la ejecución de este examen (10) Weyer Karin, 1998.

2.3. ESTRUCTURA DEL PROGRAMA NACIONAL DE TUBERCULOSIS

En 1956 se organiza la lucha contra este flagelo a partir de decisiones políticas de gobierno, es así que se conforma el Departamento Nacional de Tuberculosis, control, supervisión y servicios de vacunación BCG. En 1962 la lucha contra la tuberculosis contaba en su estructura con 4 hospitales broncopulmonares y unidades de bronconeumología en algunos departamentos, prestando atención especializada a todos los pacientes del país. En 1970 se editan las primeras normas, procedimientos de control y organización de la recolección de la información así como su análisis y supervisión, que sin embargo no produce impacto importante en el control del mal por su carácter vertical. A partir de 1982 siguiendo las normas internacionales se integra las actividades del PNT a la atención primaria de salud, lo que representó un salto cualitativo y cuantitativo en cuanto a cobertura y calidad de la atención.

El impacto inicial fue importante por lo que significó el aprendizaje e inclusión a todo el personal de salud en actividades de control, es así que se incrementó la

detección de casos. Se mejoró la vigilancia epidemiológica, se incursionó en evaluaciones de las actividades de localización de casos y de tratamiento, observándose un incremento en eficiencia de los servicios en su capacidad de curación. Sin embargo la falta de continuidad del sustento económico, dependencia del Programa Nacional de Tuberculosis (PNT) a la cooperación internacional, ausencia de compromiso político y persistencia de la verticalización y complejización innecesaria del PNT, llevó al control a una fase de deterioro epidemiológico grave, con disminución de las actividades de localización de casos, que permitió diagnosticar en 1997 a solo el 60% de los casos existentes en el país, ausencia de una política de comunicación social, de educación sanitaria y ausencia de evaluaciones científicas realizadas a través de investigaciones epidemiológicas que permitan replantar las estrategias nacionales, regionales y locales de control, optimizando la utilización tanto de los recursos humanos y técnicos disponibles en el país. (8) OPS, 1999.

2.4. CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS

La garantía de la calidad de la baciloscopia es un sistema diseñado para mejorar continuamente la fiabilidad, la eficiencia y el uso de la microscopía como opción de diagnóstico y de monitoreo. La finalidad de un programa de garantía de la calidad es mejorar la eficiencia y la fiabilidad de los servicios de microscopía de los frotis., en la comparación de resultados y evaluación técnica de láminas de baciloscopias preparadas por los laboratorios en su trabajo de rutina. Tiene prioridad entre las acciones a realizar por el laboratorio supervisor.

Los componentes de un programa de garantía de la calidad son:

- El control de calidad
- El mejoramiento de la calidad

El control de calidad de la microscopia es un proceso de supervisión interno eficaz y sistemático de los resultados del trabajo del laboratorio de microscopía. El control de calidad asegura que la información generada por el laboratorio sea exacta, fiable y

reproducibile. Esto se realiza evaluando la calidad de las muestras, supervisando la calidad de los procedimientos de microscopía, de los reactivos y del equipo en relación con estándares establecidos, examinando los resultados de la microscopía y documentando la validez de los métodos baciloscópicos.

En el laboratorio de microscopía, el control de calidad debe realizarse en forma sistemática para asegurar la fiabilidad y la reproducibilidad de los resultados de laboratorio. Para que un programa de control de calidad sea útil, debe ser práctico y viable.

El control de calidad debe aplicarse a:

- La organización del laboratorio
- Equipo de laboratorio
- La toma y el transporte de las muestras
- La manipulación de las muestras
- Los reactivos y los métodos
- La presentación de los informes
- Las claves de un control de calidad eficaz son las siguientes:
 - Formar adecuadamente al personal, interesarlo y comprometerlo con el trabajo.
 - Realizar los procedimientos prácticos aplicando el sentido común.
 - Estar dispuestos a aceptar y rectificar los errores.
 - Lograr una comunicación eficaz.

2.4.1. Medidas de control de calidad que deben aplicarse en todos los laboratorios de baciloscopia

2.4.1.1. Organización y administración del laboratorio

Asegurar que las puertas del laboratorio estén siempre cerradas. Las áreas de trabajo, el equipo y los suministros deben disponerse de tal modo que permitan un flujo

de trabajo racional y eficaz. Las áreas de trabajo deben mantenerse libres del polvo. Las mesas de trabajo deben limpiarse por lo menos una vez al día con un desinfectante apropiado. (Por ejemplo fenol al 5 %)

En el laboratorio debe guardarse una descripción escrita de todos los procedimientos utilizados, tal cual deben efectuarse, para poder consultarlas con facilidad cuando sea necesario. Cualquier cambio que se realice debe estar fechado y firmado por el supervisor del laboratorio.

Todos los registros deben guardarse durante dos años

Los procedimientos utilizados habitualmente en el laboratorio deben haber sido publicados en libros, manuales o revistas de microbiología acreditados.

2.4.1.2. Equipo de laboratorio

El equipo debe cumplir con lo estipulado en documentación técnica de los fabricantes.

Debe mantenerse en el archivo instrucciones escritas sobre la operación y limpieza de todo el equipo.

Debe llevarse un registro fechado de las tareas de mantenimiento realizadas en todo el equipo.

El equipo debe controlarse periódicamente para asegurar que mantenga siempre la exactitud y la precisión necesarias.

2.4.1.2.1. Para el microscopio

Cada día después de usarlo:

Limpiar el aceite del objetivo, el condensador y la platina con papel absorbente para lentes mojado con xileno.

Apagar la fuente de iluminación del microscopio. Ajustar al mínimo el reglaje del regulador de voltaje variable antes de apagar la lámpara.

Colocar la cubierta del microscopio.

Una vez por mes:

Eliminar el polvo utilizando un aerógrafo. (Puede armarse un aerógrafo sencillo colocando una pera de goma a una pipeta Pasteur). Limpie los objetivos, el ocular y el condensador con papel absorbente para lentes mojado en xileno.

Retirar el sujetador de portaobjetos de la platina y limpiar.

Limpie el polvo del cuerpo del microscopio y de la ventana de la fuente de luz ubicada en la base utilizando un papel absorbente humedecido en agua.

Hacer inspeccionar, limpiar y lubricar el microscopio por personal de mantenimiento especializado

2.4.1.3. Muestras y formularios de solicitud

Realice la baciloscopia sólo por solicitud escrita emitida por personas autorizadas y no admita pedidos realizados oralmente si no son seguidos de instrucciones escritas.

Insista en que los formularios de pedido sean llenados como corresponde y que la rotulación de la muestra sea adecuada a fin de asegurar que los pacientes puedan identificarse sin lugar a dudas.

Rechace las muestras que no puedan identificarse adecuadamente.

Evalúe la calidad de las muestras de esputo y si alguna tiene un aspecto parecido a la saliva, regístrelo por escrito. En el informe se debe indicar lo siguiente: la muestra tenía un aspecto parecido a la saliva si el resultado es negativo interprételo con cautela.

Descarte los envases de las muestras que tengan pérdidas o estén rotos, esterilícelos en autoclave y solicite una nueva muestra.

Registre la hora de llegada de las muestras al laboratorio y cualquier retraso en la entrega del formulario del informe, especialmente si el resultado es negativo.

2.4.1.4. Reactivos y colorantes

En todos los envases de colorantes y reactivos deben indicarse la fecha de recepción y la fecha en que se abrió por primera vez. Deberá registrarse si un material es inadecuado y retirarse del laboratorio de inmediato.

Deberá limitarse las existencias a seis meses y realizarse una rotulación periódica de éstas para evitar que venza innecesariamente.

2.4.1.5. Tinción y examen de los frotis

Las tinciones deben realizarse en lotes de no más de 12 portaobjetos. Incluya controles positivos y negativos con la lectura de cada día, especialmente si se examinan menos de 10 frotis por día.

Lea los portaobjetos de control antes de leer los frotis de los pacientes. Los portaobjetos de control son inaceptables si presentan características siguientes:

Los controles positivos no se tiñen de rojo.

Los controles negativos siguen rojos después de la decoloración.

El fondo no se decolora adecuadamente. (10) Weyer Karin, 1998.

2.4.2. Laboratorio supervisor

Es el Laboratorio de Referencia Regional de Tuberculosis que realiza control de calidad de baciloscopías, participa en la coordinación, supervisión, capacitación, información y evaluación de laboratorios distritales de la Red o de la Microrred.

2.4.2.1 Instructivo de envío de láminas y de informes

El control de calidad de baciloscopias es un método que permite evaluar, corregir errores y seguir la calidad de trabajo de estos laboratorios en sus diferentes niveles operativos (regiones, distritos, áreas y sectores)

2.4.2.2. Remisión de láminas

Las láminas de baciloscopia, deben ser referidas al Laboratorio de Tuberculosis del Departamento de La Paz, ubicado en el Instituto Nacional de Tórax para su control de calidad, las normas establecidas para tal efecto son las siguientes:

- Enviar el conjunto de láminas realizadas (positivas y negativas).
- El envío debe ser de forma trimestral
- Cada lámina debe ser bien identificada (con número)
- El resultado de baciloscopia no debe ser registrado sobre las láminas, sino en el informe.
- La limpieza de las láminas no debe dañar los extendidos. Las láminas positivas deben ser separadas de las negativas y remitidas en una cajita independiente
- Cada lámina deber ser envuelta en papel de forma separada.

2.4.2.3. Presentación del informe

De gran importancia debe contemplar:

- El informe trimestral de los laboratorios de la Red y Microrred de Tuberculosis
- Permite hacer un control trimestral de las láminas realizadas tanto de diagnóstico y de control de cada laboratorio de Tuberculosis de Área o Microrred a través de un informe que contempla:

- Informe desglosado para el respectivo reporte de láminas realizadas durante un mes de cada laboratorio que es parte de la MICRORRED de cada Red de Salud. (Anexo 1)
- Tabla de programación y dotación de material e insumos a cada laboratorio de la Red y la Microrred.
- El llenado del mismo debe estar de acuerdo al informe que cada tabla lo solicita.

2.4.2.3.1 Baciloscopias de diagnóstico

Reportar por separado el informe condensado de las baciloscopías de diagnóstico (tres baciloscopías positivas o negativas) efectuadas en un trimestre y el total de baciloscopías positivas y negativas.

Relación Sintomático Respiratorio y baciloscopías

Reportar el total de Sintomáticos Respiratorios diagnosticados en un trimestre, el total de baciloscopías positivas y negativas (por separado), y el total de baciloscopías efectuadas.

Relación de pacientes en tratamiento, conversión bacteriológica al segundo mes, fin de quinto mes y fin de tratamiento.

Reportar el total de baciloscopías positivas realizadas, el número de pacientes que entran en tratamiento, el número de baciloscopías negativas de control al segundo mes y el reporte separado del número de baciloscopías positivas y negativas efectuadas en un trimestre.

2.4.3. Solicitud del material

La tabla permite establecer la relación del material solicitado según programación y la cantidad de material e insumos dotados.

Informe de láminas para el control de calidad de baciloscopia.

El informe de resultados para baciloscopia para el control de calidad será presentado en una tabla.

El responsable del laboratorio supervisado firmará el informe anotando en letras mayúsculas su nombre y apellido. (Anexo 2)

2.4.3.1. Interpretación de resultados

El reporte de resultados del control de calidad por el contrario toma en cuenta los siguientes parámetros de evaluación:

2.4.3.2. Discordancias mayores

2.4.3.2.1. Falsos positivos

Representan las láminas clasificadas como negativas por el laboratorio supervisado y positivo por el laboratorio supervisor. El cálculo de estas discordancias es el siguiente:

Número de láminas informadas positivas por el laboratorio supervisado y negativas por el laboratorio supervisor sobre el total de láminas negativas para el laboratorio supervisor (en porcentaje)

Consecuencias de los resultados falsos positivos:

- Pacientes comienzan un tratamiento innecesario.
- Se desperdician medicamentos antituberculosos.
- En los exámenes de seguimiento de la fase intensiva del tratamiento se continúa por más tiempo que el necesario.

- Los pacientes pueden perder la confianza en el Programa Nacional de Tuberculosis.

2.4.3.2.2 Falsos negativos

Representan las láminas clasificadas como negativas por el laboratorio supervisado y positivo por el laboratorio supervisor. El cálculo de estas discordancias es el siguiente:

Número de láminas informadas negativas por el laboratorio supervisado y positivas por el laboratorio supervisor sobre el total de láminas leídas positivas por el laboratorio supervisor (en porcentaje)

- El porcentaje de falsos negativos representa a pacientes bacilíferos que no fueron diagnosticados
- Los enfermos tuberculosos no reciben tratamiento, lo que genera sufrimiento, facilita la propagación de la tuberculosis y puede provocar la muerte.
- La fase intensiva del tratamiento no se prolonga el tiempo necesario, por lo que el tratamiento resulta inadecuado.
- Los pacientes pueden perder la confianza en el Programa Nacional de Tuberculosis.
- Las discordancias de esta naturaleza no son aceptables y deben ser reducidas a lo mínimo. (10) Weyer Karin, 1998.

2.4.3.3. Discordancias menores

Representan diferencias en el grado de positividad (número diferente de cruces en el reporte semicuantitativo) en la baciloscopia. No tienen el carácter dramático de las

discordancias mayores pero son un parámetro de control de calidad de conteo de bacilos.

El Control de Calidad de Baciloscopia considera también las características de los extendidos y de la tinción. Los defectos en la materia pueden llevar a interpretaciones erróneas. A continuación presentamos los defectos más frecuentes y sus posibles consecuencias.

2.4.3.3.1. Calidad de los extendidos

- No homogéneos
- Conteo irregular de bacilos
- Demasiado grueso, esto puede impedir una decoloración adecuada y las coloraciones de contraste pueden ocultar la presencia de bacilos acidorresistentes, además, los frotis gruesos pueden escamarse, resultando en una pérdida de material del frotis y facilitando la transferencia accidental de material a otros portaobjetos.
- Una contra tinción intensa puede ocultar la presencia de bacilos acidorresistentes.
- Demasiado delgados, subestimación del grado de positividad.
- Número insuficiente de campos, subestimación del número de campos.
- Demasiado extensos, peligro de contacto con los dedos.

2.4.3.3.2 Calidad de la tinción

- Precipitados de fucsina, falsos positivos, el uso de fucsina sin filtrar, que puede contener cristales.
- Decoloración excesiva, falsos negativos.
- Decoloración insuficiente, falsos positivos, la decoloración inadecuada del frotis, que puede dejar una mancha roja en los bacilos saprofitos que luego parecen acidorresistentes.

- Contra coloración excesiva, falsos negativos.
- Exceso de fucsina, falsos positivos.
- Calentamiento, falsos negativos, descuidos al calentar la fucsina, dejando que se seque y cristalice en el frotis.

Existen otros defectos que pueden llevar a interpretaciones erróneas:

- Láminas rayadas o empolvadas
- Falsos positivos, el uso de portaobjetos rayados en los cuales los depósitos de colorante pueden confundirse con los bacilos.
- Depósito de aceite de inmersión

Lectura difícil, 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.

- Extendidos de muestras salivales
Falsos negativos
- Registro o identificación incorrecta de lámina
Falsos positivos o falsos negativos 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.

El control de calidad de baciloscopia es un método indirecto. Debe complementarse por la supervisión directa a fines de determinar el origen de los problemas detectados. Problemas (estado del microscopio, conocimiento de la técnica de Ziehl Neelsen, llenado de registros, condiciones de trabajo, factores de aislamiento o de integración del personal de laboratorio al programa).

2.5. RED DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ

Es el conjunto de laboratorios de diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis distribuidos en el departamento de La Paz, son laboratorios de Nivel 1, cabeceras de Red tienen coordinación administrativa y de organización directa con el laboratorio departamento de bacteriología de la tuberculosis de La Paz.

Realizan las baciloscopías y el envío de láminas de la Microrred al Laboratorio Departamental para su correspondiente control de calidad.

2.5.1 Microrred de laboratorios de diagnóstico de Tuberculosis del departamento de La Paz

Es el conjunto de laboratorios de diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis distribuidos en una Red de Salud del departamento de La Paz, tienen coordinación con los laboratorios de Red o cabeceras de Red.

Son laboratorios de nivel 1 y realizan baciloscopías.

Constitución de los laboratorios de diagnóstico de la tuberculosis en el departamento de La Paz

La Paz, es la ciudad más importante de la República de Bolivia; sede gubernamental, es también asiento de un gran movimiento comercial e industrial, situada a una altura de 3610 msnm, es el centro de la actividad política, administrativa y cultural del país, pertenece a la Sección Capital, provincia Murillo.

2.5.2. Red de laboratorios del área urbana

El conjunto de laboratorios en la ciudad de La Paz, tienen un responsable por cada Red, la ciudad de La Paz, cuenta con 5 Redes de Salud.

NOR-ESTE HOSPITAL LA PAZ
BAJO TEJAR
PROSALUD VILLA VICTORIA
HOSPITAL JUAN XXIII
CENTRO EPIDEMIOLOGICO
MANCO KAPAC C.N.S.
18 DE MAYO C.N.S.

NORTE ACHACHICALA
COSSMIL
ASISTENCIA PÚBLICA
HOSPITAL GENERAL
VILLA FATIMA C.N.S.
POLICLINICO CENTRAL C.N.S.
CEMSE
HOSPITAL MATERNO INFANTIL C.N.S.
HOSPITAL OBRERO C.N.S.
PROSALUD VILLA FATIMA
PROSALUD TEJADA SORZANO
HOSPITAL ARCO IRIS
INSTITUTO NACIONAL DEL TORAX

NOR – OESTE HOSPITAL SAN GABRIEL
PAMPAHASI BAJO
L.U.O. C.N.S.

SUR CIASE
PROSALUD IRPAVI
PROSALUD ACHUMANI
BELLA VISTA

SUR – OESTE TEMBLADERANI
CAJA DE CAMINOS
9 DE ABRIL C.N.S.
HOSPITAL POLICIAL
VILLA NUEVA POTOSI

2.5.3 Red de laboratorios del área rural

El conjunto de laboratorios en área rural del departamento de La Paz, tienen un responsable por cada Red, o cabecera de distrito, se cuanta con 13 distritos.

PALOS BLANCOS HOSPITAL PALOS BLANCOS
SANTA ANA MONSETEN
PROYECTO OSCAR
COVENDO
TUCUPI
SAPECHO

CARANAVI SERVIR
BORG
ALCOCHE
KOLLASUYO
CARRASCO LA RESERVA
HOSPITAL CARANAVI

LARECAJA TROPICAL MAPIRI
GUANAY
UNUTULUNI

CHUQUINI

TIPUANI

NOR YUNGAS

COROICO

CORIPATA

SUD YUNGAS

YANACACHI

LA ASUNTA

CHULUMANI

IRUPANA

INGAVI

VIACHA

DESAGUADERO

CORPA

GUAQUI

VIACHA C.N.S.

TIHUANACU

LOS ANDES

LAJA

BATALLAS

PUCARANI

OMASUYOS

ACHACACHI

ARCORAIMES

SANTIAGO DE HUATA

MANCO KAPAC

HOSPITAL COPACABANA

LARECAJA ANDINA

SORATA

INQUISIVI

COLQUIRI

LICOMA

CAJUATA

INQUISIVI

QUIME

AROMA

PATACAMAYA

CALAMARCA

SICA SICA

AYO AYO

UMALA

COLQUENCHA

CAMACHO

MOCO MOCO

CARABUCO

HUMANATA

PUERTO ACOSTA

ESCOMA

AMBANA

MUÑECAS

TITIKACHI

AYATA

ITURRALDE

IXIAMAS

SAN BUENA AVENTURA

MURILLO

HUAJCHILLA

COHONI

PALCA

ACHOCALLA

LOAYZA

LURIBAY

UCHAMBAYA

ANCHALLANI

CARACATO

FRANZ TAMAYO

APOLO

PACAJES

COROCORO

2.5.4. Laboratorios del distrito de la ciudad de El Alto

El conjunto de laboratorios en la ciudad de El Alto, tienen un responsable por cada Red, cuenta con 4 Redes de salud.

Características particulares de laboratorios de área urbana y ciudad de El Alto:

Existen laboratorios que responden a seguros y organizaciones no gubernamentales ONG, los cuales han sido incorporados por razones administrativas independientes, la

Caja Nacional de Salud y los laboratorios de PROSALUD distribuidos en área urbana de La Paz y El alto. (11) Zambrana Roxana, 2003.

3. JUSTIFICACION

3.1. JUSTIFICACION GENERAL

La Tuberculosis es un problema grave de salud, que afecta principalmente a individuos sin discriminación socio económico.

A pesar de que es una enfermedad que se puede prevenir y curar, continua siendo un problema serio de salud pública es así que anualmente se diagnostican en el país un promedio de 10.000 pacientes con Tuberculosis.

A través del control de la Tuberculosis se pretende reducir la morbilidad mortalidad y la transmisión de la enfermedad hasta que deje de ser una amenaza para la salud pública.

3.2. JUSTIFICACION OPERATIVA

En la década de los ochenta fueron organizándose los laboratorios que realizan el diagnóstico de baciloscopías constituyendo una red de laboratorios encargada de realizar seguimiento a los laboratorios periféricos del área URBANA- RURAL a través de diferentes mecanismos que permiten garantizar el diagnóstico laboratorial de la Tuberculosis.

El laboratorio de diagnóstico de la Tuberculosis, es la parte fundamental en la detección de casos de esta enfermedad, mediante la realización de Control de Calidad en forma trimestral.

En la actualidad existen 104 laboratorios a nivel departamental los mismos que están distribuidos 34 en el área Urbano y 70 laboratorios en el área Rural, están integrados laboratorios de la C.N.S., Seguro Militar, Pro-Salud, SEDES, Laboratorios pertenecientes a ONG.

Todos los laboratorios miembros de la red deben elevar el informe cada trimestre acompañados por las láminas ejecutadas en ese trimestre para el Control de Calidad y su posterior suministro de insumos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar el Control de Calidad indirecto de Baciloscopias a 10 Laboratorios pertenecientes a la Red de Tuberculosis efectuado en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis ubicado en el Instituto Nacional del Tórax (Enero – Mayo del 2004), y de esta manera, asegurar resultados confiables oportunos y reproducibles en bacteriología de la Tuberculosis en el departamento de La Paz.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar el Control de Calidad de la concordancia en la lectura del examen de baciloscopia a 10 laboratorios integrantes de la Red de Tuberculosis en el Departamento de La Paz.
- Realizar el Control de Calidad de los extendidos de láminas de baciloscopia de los laboratorios periféricos sometidos al Control de Calidad por el Laboratorio Supervisor.
- Realizar el Control de Calidad de la técnica de tinción Ziehl – Neelsen de láminas de baciloscopia de los laboratorios periféricos.
- Identificación de problemas operativos en los laboratorios sometidos al Control de Calidad.

5. MATERIALES Y METODOS

Microscopio óptico

Láminas

Aceite de inmersión

Alcohol de 96°

Fucsina fenicada

Alcohol ácido

Azul de Metileno

Agua potable

Porta láminas

Formularios para llenado de información

5.1. METODOLOGIA

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis de La Paz que se encuentra ubicado en el INSTITUTO NACIONAL DEL TORAX.

Fueron sometidos al Control de Calidad 10 laboratorios obtenidos al azar, de aquellos laboratorios que presentaron discordancias o alguna dificultad en la supervisión realizada los anteriores trimestres, como dificultad en la manera de envío de los informes y láminas, a los laboratorios que se integran a la Red, a los laboratorios cuyo personal se capacito recientemente en el laboratorio central, personal nuevo y luego se hace el control a los laboratorios con 0 % de discordancia al azar, a estos se realiza el control cada dos trimestres, para seguimiento.

Se realizo el Control de Calidad a los siguientes laboratorios:

- Hospital Juan XXIII
- Materno Infantil Achachicala
- Hospital Luis Uria de la Oliva
- Centro de Salud Piloto
- Centro de Salud Huajchilla
- Hospital desaguadero
- Centro de Salud CIASE
- Hospital Pucarani
- Centro de Salud Caminos
- Centro de Salud Achocalla

5.1.1 Recepción de láminas – informes

La recepción de láminas de control de calidad se la realiza a partir del término de cada trimestre hasta la fecha 10 del siguiente mes, la coordinación es directamente con los responsables de cada Red Urbano y Rural, al mismo tiempo se distribuye los insumos para la realización de baciloscopías los mismos son dotados a los laboratorios con que

cuenta un determinado Red de salud, paralelamente se entregan los resultados de control de calidad que no fueron entregados, en forma escrita

5.1.2 Condiciones para el control de calidad

Para que un laboratorio sea sometido al control de calidad debe cumplir ciertas condiciones:

- Deben realizar en envío de láminas y el informe en forma oportuna, en caso de recepcionar solo uno de estos no se realiza el control.
- Las láminas deben ser correctamente embaladas (cada lámina debe contar con un sobre, separar láminas positivas y negativas)
- Las láminas deben estar exentas de aceite de inmersión de lo contrario llegan pegadas entre sí, estas no se someten al control de calidad, debido a que pueden romperse al separarlas
- La codificación de las láminas debe ser correcta (diferenciar láminas de diagnóstico y control, especificando el mes de control, claro y complementario al informe enviado.
- El informe debe estar correctamente llenado, debe ser complementario a las láminas procesadas en un trimestre y complementario a las láminas recibidas.

5.1.3 Selección de láminas

Según las Normas Nacionales para el control de calidad, la cantidad de láminas seleccionadas varía según el número de láminas recibidas, observar el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Proporción de láminas realizadas en relación con láminas controladas Obtenidas del Laboratorio Departamental de Tuberculosis

N° DE LAMINAS REALIZADAS	N° DE LAMINAS ENVIADAS		N° DE LAMINAS PARA CONTROL DE CALIDAD	
	(+)	(-)	(+)	(-)
Menos de 20	100 %	100 %	100 %	100 %
20 -50 láminas	100 %	100 %	50 %	75 %
50 – 100 láminas	100 %	100 %	25 %	50 %
100 – 200 láminas	100 %	100 %	15 %	20 %
Mas de 200 laminas	100 %	100 %	10 %	15 %

Como se observa, en caso de que las láminas sean en grandes cantidades no se controlan el 100 %, mientras mayor es la cantidad de láminas recibidas menor es la cantidad de láminas controladas, y eso va para las positivas y negativas, solo se trata de láminas y no de pacientes, estas son escogidas o seleccionadas al azar, en caso de las láminas positivas; si una de estas resulta ser un Falso positivo, debemos realizar control de las otras 2 láminas del mismo paciente.

5.1.4. Primera lectura

La primera lectura se realizó a ciegas, es decir que no se tiene conocimiento de los resultados del laboratorio periférico, al mismo tiempo se califica la calidad del extendido, calidad de la tinción, calidad de la muestra y finalmente verificar la presencia de BAAR o la negatividad de cada lámina seleccionada. .

5.1.5 Compatibilización de resultados (supervisor – supervisado)

Una vez realizada la primera lectura, se observa la compatibilidad de los resultados de la 1º lectura y los resultados del laboratorio supervisado (Anexo 3), a partir de esta etapa se realizan la selección de láminas discordantes.

5.1.6. Selección de discordancias

Si los resultados de una lámina o más difieren, es decir si el resultado del laboratorio supervisor, es positivo y el resultado del laboratorio supervisado es negativo o viceversa (de una misma lámina) en la primera lectura es o son consideradas como posibles discordancias mayores, falso negativo o falso positivo; estas son seleccionadas a partir de las láminas controladas.

5.1.7. Segunda lectura

Una vez que las láminas de las posibles discordancias son seleccionadas a partir de las láminas controladas se hace segunda lectura a cargo de otra persona la que de igual manera no tiene conocimiento de los resultados (lectura a ciegas)

5.1.8. Recoloración

Después de la segunda lectura se verifica si el resultado final es compatible con la del laboratorio periférico, en caso de ser un posible falso positivo, si la lámina es positiva entonces se descarta como discordancia, en cambio si el resultado continúa con su negatividad a esta se la somete a la recoloración (tinción Ziehl Neelsen), si aún después de

la recoloración no se visualizan los BAAR entonces es considerada FALSO POSITIVO, en el caso de las láminas consideradas como posibles falsos negativos, es decir que en laboratorio periférico el resultado sea negativo y el laboratorio central se verifique la presencia de BAAR en la primera y segunda lectura, estas son consideradas directamente como FALSOS NEGATIVOS, también existe la posibilidad de que entre estas dos lecturas hayan diferencias, en este caso, son sometidas a la recoloración para el descarte de errores.

La retroalimentación se realiza inmediatamente después detectado la lámina discordante, mediante radio al área rural o línea baja (teléfono) al área rural.

5.1.9. Elaboración del Pre – informe

Una vez determinado la existencia o no de discordancias, se elabora el preinforme, en el cual se realizan el recuento de láminas positivas y negativas informadas, recibidas y controlada expresados en forma numeral y porcentual, posteriormente se realiza el cálculo en porcentaje de discordancias en caso de existir estas se diferencian si son falsos positivos y/o falsos negativos haciendo mención detallada de tales láminas discordantes (Anexo 4)

5.1.10. Elaboración del informe final

El informe final es elaborado una vez concluido el preinforme y estos tienen copia en archivo, laboratorio periférico y Red de Salud. (Anexo 5)

5.1.11. Entrega de resultados informe de control de calidad

La entrega del informe final es lo mas antes posible, generalmente son a los responsables de cada distrito, estos se encargan de hacer llegar a los laboratorios.

6. RESULTADOS

El presente trabajo fue realizado con 10 laboratorios que integran la Red de Laboratorios de Tuberculosis de la ciudad de La Paz.

De un total de 1376 láminas informadas, se recibieron 1319 láminas, para el control de calidad se revisaron efectivamente 402 láminas, de las cuales se obtuvo 6.53 % de láminas positivas y 93.47 % de láminas negativas. (Tabla 1 y 2)

En cuanto a la relación de laboratorios del área urbano y rural del departamento de La Paz se obtuvo porcentaje similar de láminas positivas, además cabe mencionar que el porcentaje es bajo con relación a láminas negativas enviadas. (Figura 1 y 2)

En el Control de Calidad realizado a laboratorios de la Red de Tuberculosis obtuvimos un total de 0 % de discordancias mayores, tanto falso positivos como falsos negativos de láminas enviadas para el control de calidad. (Tabla 3)

Cabe mencionar que dos laboratorios (Laboratorio 1 y Laboratorio 3) presentaron discordancias menores que están relacionadas al grado de positividad de las láminas controladas.

TABLA 1. PROPORCION DE LÁMINAS CONTROLADAS EN RELACION A LÁMINAS INFORMADAS REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

LABORATORIOS	LAMINAS INFORMADAS	LAMINAS RECIBIDAS	LAMINAS CONTROLADAS
Laboratorio 1	130	128	40
Laboratorio 2	370	333	61
Laboratorio 3	456	436	81
Laboratorio 4	46	46	35
Laboratorio 5	27	25	20
Laboratorio 6	91	91	46
Laboratorio 7	140	140	30
Laboratorio 8	42	42	32
Laboratorio 9	32	32	24
Laboratorio 10	44	44	33
TOTAL	1373	1319	402

TABLA 2. TOTAL DE LÁMINAS SOMETIDAS AL CONTROL DE CALIDAD REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

BACILOSCOPIAS	CANTIDAD	PORCENTAJE
<i>LAMINAS POSITIVAS</i>	<i>86</i>	<i>6,53</i>
<i>LAMINAS NEGATIVAS</i>	<i>1232</i>	<i>93,47</i>
<i>TOTAL</i>	<i>1318</i>	<i>100</i>

FIGURA 1. CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS DEL ÁREA URBANO DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

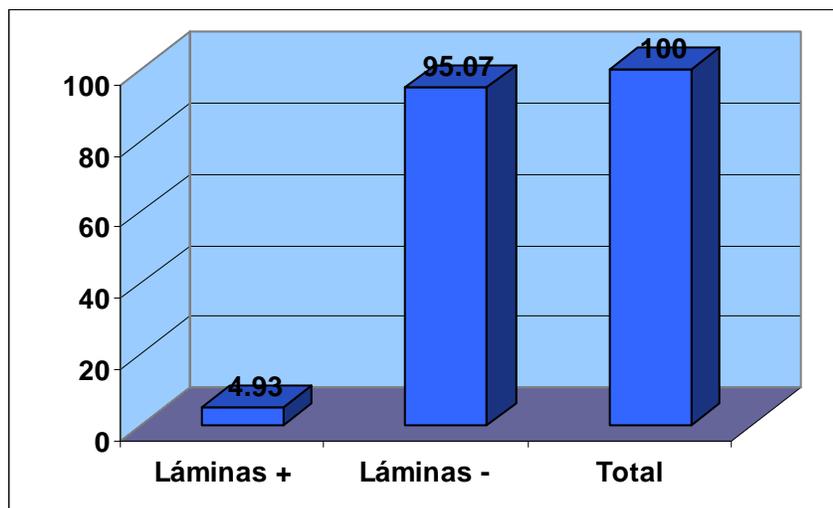


FIGURA 2. CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS AREA RURAL DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

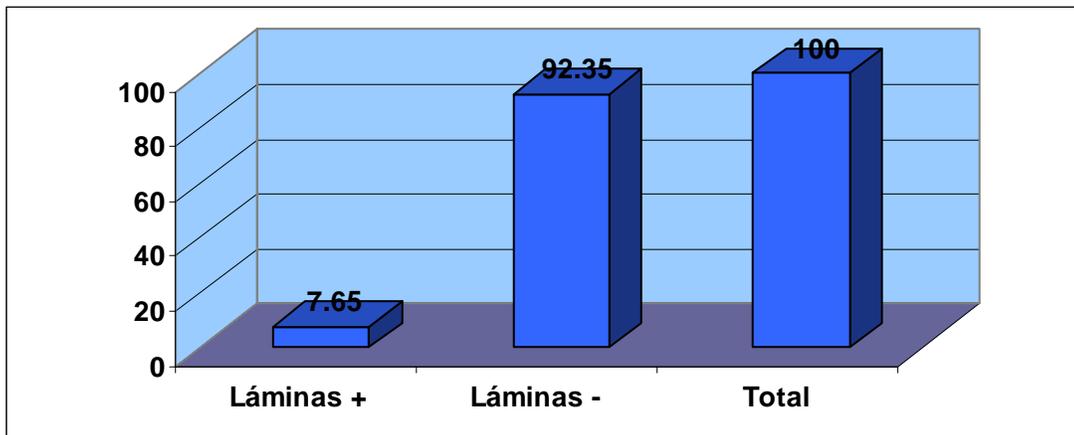


TABLA 3. DISCORDANCIAS DE LÁMINAS SOMETIDAS A CONTROL DE CALIDAD REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

LABORATORIOS	DISCORDANCIAS MAYORES FALSOS POSITIVOS	DISCORDANCIAS MAYORES FALSOS NEGATIVOS	DISCORDANCIAS MENORES
Laboratorio 1	0	0	2
Laboratorio 2	0	0	0
Laboratorio 3	0	0	2
Laboratorio 4	0	0	0
Laboratorio 5	0	0	0
Laboratorio 6	0	0	0
Laboratorio 7	0	0	0

Laboratorio 8	0	0	0
Laboratorio 9	0	0	0
Laboratorio 10	0	0	0
TOTAL	0	0	4

Según la evaluación de calidad se obtuvo un total de 60.76 % de buenos extendidos de laminas de baciloscopia, remitidas por los laboratorios pertenecientes a la Red de Tuberculosis, de los cuales el Laboratorio 8 realizo buenos extendidos en todas las muestras remitidas al Laboratorio Supervisor, mientras que el porcentaje mas bajo de buenos extendidos fue realizado por el Laboratorio 4 (Tabla 4).

Con relación a laboratorios del área urbana del departamento de La Paz se obtuvo 58.9 % de laminas de baciloscopia con buenos extendidos, mientras que laboratorios del área rural obtuvieron 63.5 %, los porcentajes mas bajos que se detectaron en el control de calidad fue el numero insuficiente de campos (Figura 3 y 4).

De todas las baciloscopias realizadas por laboratorios del departamento de La Paz se obtuvo el total de 80.82 % de laminas de baciloscopia con buena tinción, de los cuales el Laboratorio 8 realizo buena tinción en el total de laminas al laboratorio (Tabla 5).

La calidad de tinción de laminas de baciloscopia, de laboratorios en el área urbana fue de 77.7 % y 85.5 % laboratorios del área rural. (Figura 5 y 6).

TABLA 4. CALIDAD DEL EXTENDIDO REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

LABORATORIOS	NO HOMOGENEOS	DELGADOS	NUMERO INSUFICIENTE DE CAMPOS	BUENOS	GRUESOS
Laboratorio 1	2,5	12,5	-	85	-
Laboratorio 2	3,5	6,5	-	90	-
Laboratorio 3	17,3	12,3	-	65,5	4,9
Laboratorio 4	34,4	31,2	8,6	20,1	5,7
Laboratorio 5	-	10	5	80	5
Laboratorio 6	8	37,6	4,4	37	13
Laboratorio 7	10	26	-	64	-

Laboratorio 8	-	-	-	100	-
Laboratorio 9	46	12	-	29	13
Laboratorio 10	39	21	3	37	-
TOTAL	16,07	16,91	2,1	60,76	4,16

**TABLA 5. CALIDAD DE LA TINCION DE BACILOSCOPIA DE
LABORATORIOS PERIFÉRICOS REALIZADO EN EL LABORATORIO
DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ
(ENERO – MAYO 2004)**

LABORATORIOS	PRECIPITADO DE FUCSINA	EXCESO DE CRISTALES DE FUCSINA	EXCESO DE FUCSINA	BUENO
Laboratorio 1	-	5	2,5	92,5
Laboratorio 2	4,9	16,4	3,3	73,4
Laboratorio 3	-	3,7	3,7	92,6
Laboratorio 4	14,3	8,6	11,4	65,7
Laboratorio 5	5	-	-	95
Laboratorio 6	8	-	3	89
Laboratorio 7	-	10	-	90

Laboratorio 8	-	-	-	100
Laboratorio 9	-	37	13	50
Laboratorio 10	24	3	15	58
TOTAL	5,62	8,37	5,19	80,82

FIGURA 3. CALIDAD DEL EXTENDIDO REALIZADO POR LABORATORIOS PERIFERICOS DEL AREA URBANA DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

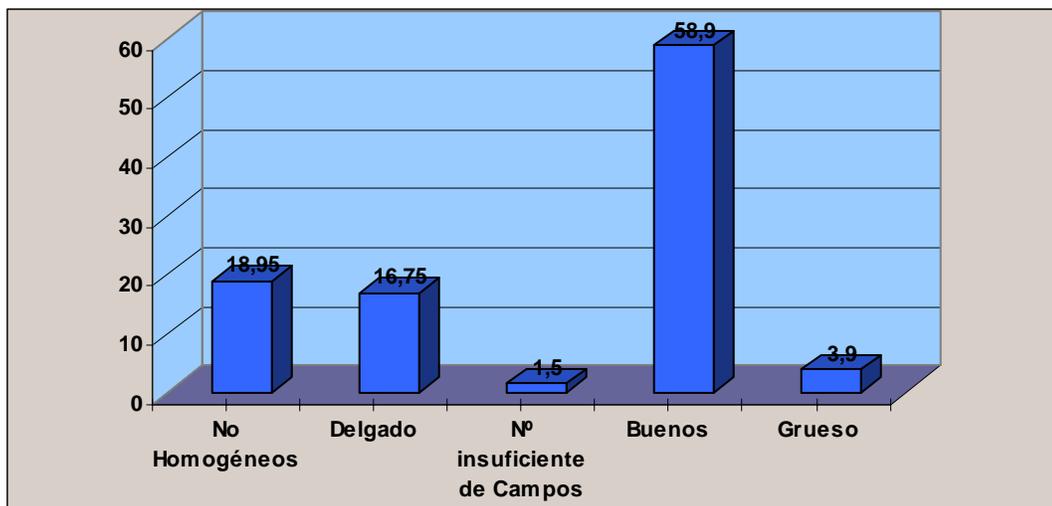


FIGURA 4. CALIDAD DE EXTENDIDO DE LABORATORIOS PERIFERICOS DEL AREA RURAL DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

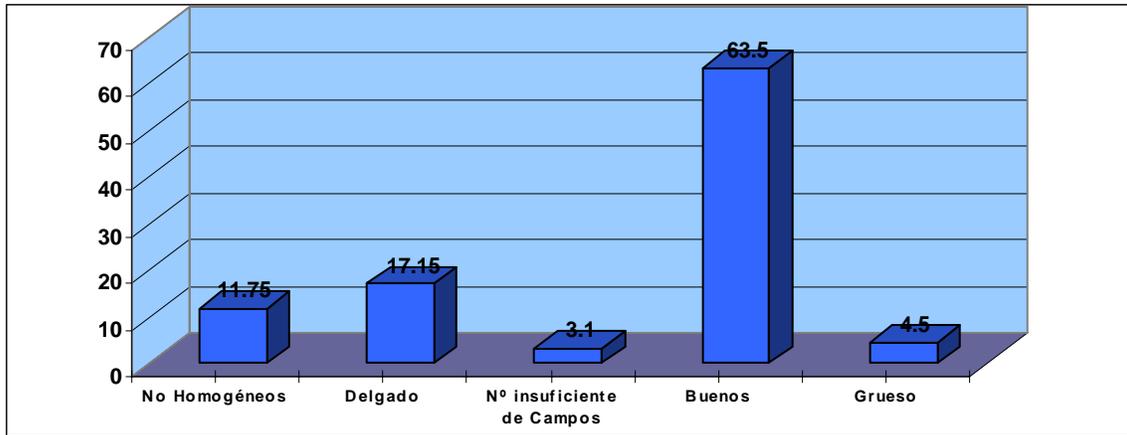


FIGURA 5. CALIDAD DE LA TINCION DE LABORATORIOS PERIFERICOS AREA URBANA DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS (ENERO – MAYO 2004)

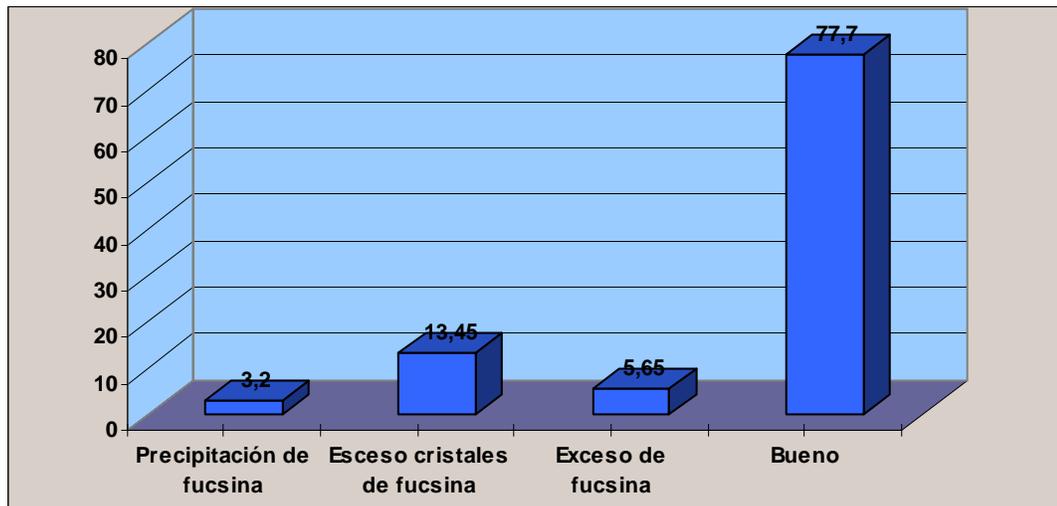
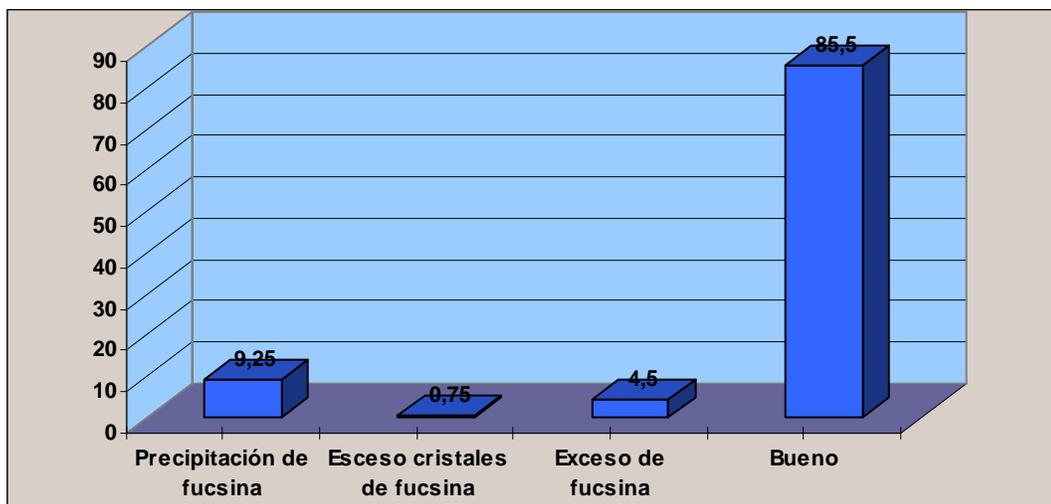


FIGURA 6. CALIDAD DE LA TINCION DE LABORATORIOS PERIFERICOS AREA RURAL DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ ELABORADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS (ENERO – MAYO 2004)



El promedio total de Sintomático Respiratorio que se obtuvo en el control de calidad a laboratorios periféricos del Departamento de La Paz fue 2,44; en caso de los laboratorios (Laboratorio 2, Laboratorio 8 y Laboratorio 9) el promedio que presentan por Sintomático Respiratorio es bajo, se debe completar en lo posible a tres baciloscopias por Sintomático Respiratorio, ya que la meta es tres. (Tabla 6).

Cabe mencionar que se obtuvo promedio similar de Sintomático Respiratorio en laboratorios del área urbana (2,42) y laboratorios del área rural (2,45) del departamento de La Paz (Figura 7).

Se detectó con relación a la calidad de la muestra 33,53 % de muestras salivales reportadas por los laboratorios pertenecientes a la Red de Laboratorios de Tuberculosis,

este promedio esta dentro de parámetros aceptables, se debe recomendar al personal encargado de cada laboratorio reducir en la medida de las posibilidades la calidad de muestras salivales para un buen diagnostico (Figura 8).

TABLA 6. NUMERO DE MUESTRAS PROCESADAS POR SINTOMÁTICO RESPIRATORIO DE LABORATORIOS DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ ELABORADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)

Laboratorio	Nº de muestra primera	Nº de muestra segunda	Nº de muestra tercera	Sintomático Respiratorio
Laboratorio 1	<i>45</i>	<i>43</i>	<i>38</i>	<i>2,80</i>
Laboratorio 2	<i>172</i>	<i>90</i>	<i>75</i>	<i>1,97</i>
Laboratorio 3	<i>177</i>	<i>134</i>	<i>132</i>	<i>2,50</i>
Laboratorio 4	<i>16</i>	<i>15</i>	<i>15</i>	<i>2,87</i>
Laboratorio 5	<i>9</i>	<i>6</i>	<i>6</i>	<i>2,60</i>
Laboratorio 6	<i>34</i>	<i>28</i>	<i>24</i>	<i>2,52</i>
Laboratorio 7	<i>52</i>	<i>42</i>	<i>41</i>	<i>2,60</i>
Laboratorio 8	<i>18</i>	<i>13</i>	<i>7</i>	<i>2,11</i>

Laboratorio 9	18	9	5	1,78
Laboratorio 10	15	12	12	2,60
TOTAL	556	392	355	2,44

FIGURA 7. PROMEDIO DE SINTOMATICO RESPIRATORIO DEL AREA URBANA Y RURAL DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ ELABORADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS (ENERO – MAYO 2004)

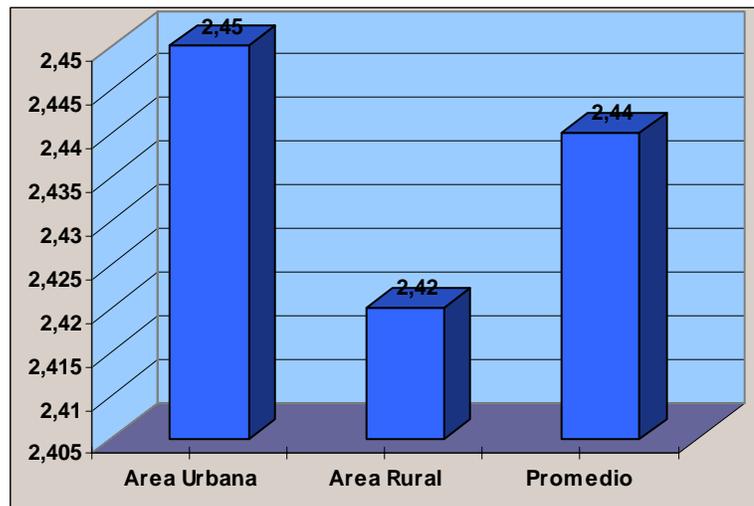
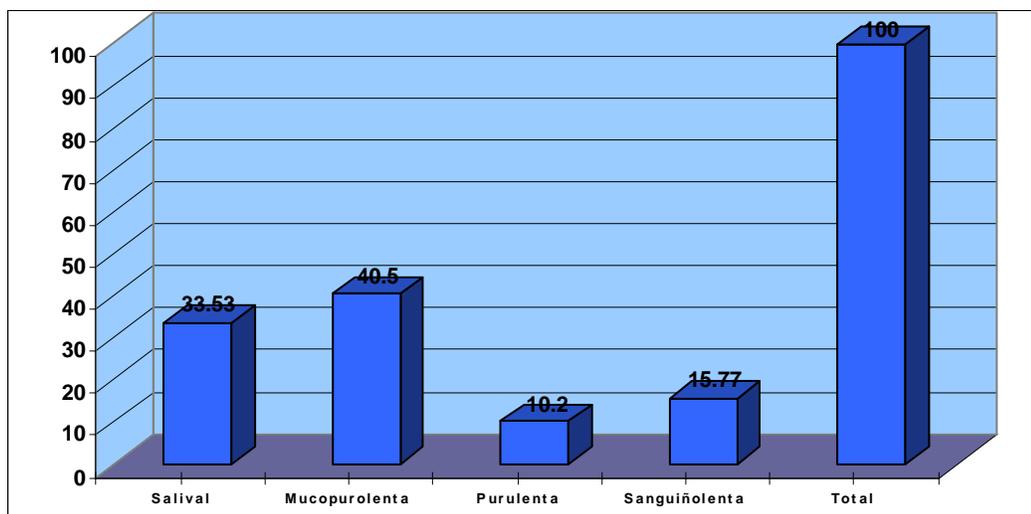


FIGURA 8. CALIDAD DE LA MUESTRA DE LABORATORIOS REALIZADO EN EL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE TUBERCULOSIS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (ENERO – MAYO 2004)



7. CONCLUSIONES

El control de calidad de baciloscopias se desarrolla en el departamento de La Paz, se realiza cada trimestre de manera sistemática debido a la coordinación eficaz del Laboratorio Supervisor con laboratorios periféricos pertenecientes al Programa Nacional de Tuberculosis del área urbana y rural, de acuerdo a la evaluación realizada, el porcentaje de discordancias mayores de láminas positivas y láminas negativas fue de 0 %, de esta manera podemos garantizar la calidad de los extendidos y lectura optima de los mismos, gracias a la capacitación del personal que se realiza en el Laboratorio Departamental de Tuberculosis de la ciudad de La Paz.

A través del trabajo realizado verificamos un bajo porcentaje de discordancias menores, las que se encuentran relacionadas con el grado de positividad de las láminas remitidas por los laboratorios periféricos.

El Control de Calidad realizado a 10 laboratorios pertenecientes a la red de Tuberculosis, según las láminas examinadas, obtuvimos buenos extendidos en el área urbana (58,9%); área rural (63,5%).

El Control de Calidad permitió encontrar puntos críticos en los extendidos que remitieron los laboratorios pertenecientes al Programa Nacional de Tuberculosis, entre estos tenemos el porcentaje alto de algunas muestras no homogéneas en tres laboratorios Laboratorio 4 (34.4%); Laboratorio 9 (46 %) y laboratorio 10 (39 %) en relación a los parámetros del Control de Calidad, y el Laboratorio 6 presentó alto porcentaje relacionado con los extendidos delgados (37%); frente a los problemas identificados el laboratorio Supervisor realizó acciones correctivas con el objetivo de enmendar las deficiencias presentadas ya que estos parámetros influyen en la subestimación del grado de positividad en la lectura y el resultado de la baciloscopia.

Obtuvimos extendidos con buena tinción en laboratorios del área urbana (77,7%) y laboratorios del área rural (85,5%), estos porcentajes aseguran que estos resultados son confiables, tanto en el área urbana y área rural del Departamento de La Paz, se observa en los laboratorios el cumplimiento eficiente de la técnica de tinción Ziehl – Neelsen y su ejecución sistemática de las Baciloscopias procesadas.

El control de calidad de baciloscopia permitió encontrar porcentaje bajo de muestras salivales que fue (33,53 %), promedio de Sintomático Respiratorio (2,44), que puede inducir a la lectura de falsos negativos, se realizaron las recomendaciones a los laboratorios para mejorar la calidad de las baciloscopias.

A través del Control de Calidad de baciloscopia realizado por el Laboratorio Supervisor, no se identificó problemas operativos en los laboratorios periféricos del Departamento de La Paz.

Cabe mencionar que el recurso humano con que se cuenta en los laboratorios, no se dedica específicamente a realizar exámenes baciloscópicos, ya que además realizan otros exámenes de laboratorio, tanto en laboratorios del área urbana como rural, a pesar de este problema el personal que realiza los exámenes de baciloscopia es eficaz y los resultados que remitieron al Laboratorio Supervisor fueron con 0% de discordancia.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Laboratorio de Salud (INLASA)

“MANUAL DE LABORATORIO DEL MINISTERIO DE SALUD Y PREVISIÓN SOCIAL”.

Red Nacional de Laboratorio 2002.

2. Jawetz Ernest

“MICROBIOLOGIA MEDICA “

Editorial Manual Moderno, México D.F. 2000.

3. Luna Carlos M.

“NEUMOLOGÍA CRITICA”

Editorial Medical Books, Argentina, 2001.

4. Ministerio de Salud y Provisión Social

“MANUAL DE NORMAS TÉCNICAS DE TUBERCULOSIS”

Programa Nacional de Control de la Tuberculosis, 1999.

5. Organización Mundial de la Salud (OMS)

“BACILOSCOPIA DIRECTA DE BAAR”

2000.

6. Organización Panamericana de la Salud (OPS)

“GUIA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS POR EL EXAMEN MICROSCOPICO”

Washington D. C. Estados Unidos, 1994.

7. Organización Panamericana de la Salud (OPS)

“MANUAL SOBRE METODOS Y PROCEDIMIENTOS PARA LOS PROGRAMAS INTEGRADOS. CONTROL DE TUBERCULOSIS”

1997.

8. Organización Panamericana de la Salud (OPS)

“EVALUACIÓN CONJUNTA DEL PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE TUBERCULOSIS”

Bolivia, Octubre 1999.

9. Rolando S. Sánchez Montaña

“GUIA DE TRABAJOS DE BIOLOGIA MOLECULAR”

2da edición, La Paz – Bolivia 2003.

10. Weyer Karin

“LOS SERVICIOS DE LABORATORIO EN EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS II MICROSCOPIA”

Ginebra Suiza, 1998

11. Zambrana Higuera Roxana

“PROYECTO CENTRALIZACIÓN RED DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS”

Departamento de La Paz – El Alto, 2003.

ANEXOS

ANEXO 2

INFORME TRIMESTRAL DE BACILOSCOPIAS RED DE LABORATORIOS DE TBC DE LA PAZ

Distrito:.....Laboratorio:.....
 Responsable:.....Dirección:.....
 Teléfono:.....Clave de Radio:.....Horario de Atención:.....
 Población Atendida:.....trimestre:.....Responsable Programa:.....

POSITIVOS (+)			NEGATIVOS (-)			TOTAL	
1ra	2da	3ra	1ra	2da	3ra	Positivos (+)	Negativos (-)

RELACIÓN SINTOMÁTICO RESPIRATORIO Y BACILOSCOPIAS DE CONTROL

Sintomáticos Respiratorios	Pacientes Nuevos BK + en 2° mes Tratamiento	Baciloscopias negativas al segundo mes	BACILOSCOPIAS DE CONTROL		TOTAL BACILOSCOPIAS DE CONTROL
			(+)	(-)	

TOTAL BACILOSCOPIAS DE DIAGNÓSTICO	TOTAL DE BACILOSCOPIAS DE CONTROL	TOTAL DE BACILOSCOPIAS DE DIAGNÓSTICO Y DE CONTROL

Materiales/Insumos	Cálculo	Cantidad Solicitada	Cantidad Entregada
ENVASES	1x Lámina		
PORTAOBJETOS	1x Lámina		
FUCSINA FENICADA	4ml x Lámina		
AZUL DE METILENO	4ml x Lámina		
ALCOHOL ÁCIDO	4ml x Lámina		
ACEITE DE CEDRO	0,1 ml x Lámina		
Otros			

ANEXO 3

Laboratorio: _____ Fecha de Llegada _____

Trimestre: _____ Realizado por: _____

	N°	Calidad Extendido	Calidad Tinción	Resultado Supervisor	Resultado Supervisado	Observaciones
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
34						

ANEXO 4

PREINFORME DE CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS

Laboratorio: _____

Distrito: _____ Periodo o Trimestre: _____ Gestión: _____

1. Número de láminas Recibidas: POSITIVAS: _____
 NEGATIVAS: _____
 TOTAL: _____
2. Número de láminas informadas: POSITIVAS: _____
 NEGATIVAS: _____
 TOTAL: _____
3. Número de láminas controladas: POSITIVAS: _____
 NEGATIVAS: _____
 TOTAL: _____
4. Discordancias Mayores ().....%
5. Falsos Positivos ().....% (.....)
6. Falsos Negativos ().....% (.....)
7. Discordancias Menores ().....%
8. Calidad del Extendido NH() (%) DE () (%) NIC () (%)
 B () (%) G () (%)
9. Calidad de Tinción PE() (%), ECF() (%), EF() (%) B () (%)
10. Embalaje ()
11. Limpieza ()
13. Identificación de las Laminas ()
14. Calidad del Informe ()
15. Observaciones (.....BK*SR.....) (.....%.Salivales)

16. Recomendaciones

.....
.....
.....

DISCORDANCIAS CONTROL DE CALIDAD

No.	CODIGO LAMINA	RESULTADO PERIFERICO	PRIMERA LECTURA	SEGUNDA LECTURA	1ra. LECTURA RECOLORACION	CONCLUSION	RESULTADO FINAL
1							
2							
3							

ANEXO 5

INFORME FINAL DE CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIA

La Paz,..... De..... de 200....

LABORATORIO:

RED DE SALUD:

PERIODO:..... TRIMESTRE:.....

- NUMERO DE LAMINAS RECIBIDAS: Positivas: (%)
Negativas (%)
- NUMERO DE LAMINAS INFORMADAS: Positivas: (%)
Negativas: (%)
- NUMERO DE LÁMINAS CONTROLADAS Positivas (%)
Negativas: (%)
- DISCORDANCIAS MAYORES:
 - FALSOS POSITIVOS:
 - FALSOS NEGATIVOS:
- DISCORDANCIAS MENORES:
- CALIDAD DE EXTENDIDOS: (%)
- CALIDAD DE LA TINCION: (%)
- EMBALAJE:
- LIMPIEZA:
- IDENTIFICACIÓN DE LÁMINAS:
- CALIDAD DEL INFORME:

- RECOMENDACIONES: Método de Cálculo:

- Falsos Positivos: Número de láminas leídas negativas sobre el número total de láminas informadas como positivas.
- Falsos Negativos: Número de láminas leídas positivas sobre número total de láminas informadas como negativas.
- Discordancias menores: Diferencias en el grado de positividad.

