



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!

MINISTERIO DE SALUD

MINISTERIO DE SALUD

Normativa - 057

MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS POR BACILOSCOPIA

Managua, septiembre 2010

- N
WF
39
0084
2010
- Nicaragua. Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional
Ministerio de Salud. Dirección Superior del Ministerio
de Salud. **Manual de Procedimiento para el Diagnóstico de
de Tuberculosis por Baciloscopia/** Centro Nacional de
Diagnóstico y Referencia. Managua: MINSA, Septiembre 2010
47p.; ilus
(Normativa 057, Acuerdo Ministerial 309-2010 y Soporte Jurídico No.423,
**Ley General de Salud, Publicada en la Gaceta No. 91 del 17 de mayo
del 2002)**
1. Técnicas y Procedimientos de Laboratorio
 2. Tuberculosis- diagnóstico
 3. Tuberculosis- transmisión
 4. Mycobacterium tuberculosis
 5. Baciloscopia (descriptor Local)
 6. Procedimiento para preparación de los frotis (Descriptor Local)
 7. Bioseguridad en el Laboratorio (Descriptor Local)
 8. Guía práctica para la evaluación de trabajo (Descriptor Local)
 9. Desinfección y Eliminación de Material Contaminado (Descriptor Local)

Ficha Bibliográfica elaborada por la Biblioteca Nacional de Salud

© MINSA, Septiembre- 2010

CRÉDITOS

DIRECCIÓN SUPERIOR DEL MINISTERIO DE SALUD

Sonia Castro	Ministra de Salud
Elías Guevara Ordoñez	Vice-Ministro (a) de Salud
Enrique Beteta	Secretario General

DOCUMENTO REVISADO POR:

Dra. Martha Jiménez Martínez	Delegado de Vigilancia para la Salud
Dra. Senobia Sequeira	Departamento de Regulación Sanitaria
Dr. Francisco Maldonado	Coordinador del Componente de Tuberculosis
Dr. Mauricio Paniagua	Departamento de Regulación Sanitaria
Dr. Alfonso Porta	Departamento de Regulación Sanitaria
Dra. Indira Herrera Briones	Departamento de Información Médica
Dr. Luis Chacón	Responsable del Departamento de Microbacterias CNDR, MINSA
Lic. Martha Lainez	CNDR, MINSA
Lic. Miguel Mercado	CNDR, MINSA
Tec. Enrique Rosales	CNDR, MINSA
Dr. Alcides González	Director General del CNDR, MINSA

COMISIÓN DE APROBACIÓN DE NORMA:

Lic. Luz María Torres	Directora General Regulación Sanitaria
Dra. Tania García G	Dirección Asesoría Legal
Dra. Karel García Meza	Delegado de Cooperación Externa
Dr. Carlos Cuadra	Director de Servicios Especializados
Dra. Luisa Campos Rojas	Delegado de Vigilancia para la Salud
Dra. Miurel Calero Espinoza	Delegada del Departamento de Docencia
Dra. Senobia Sequeira	Departamento de Información Médica
Dra. Martha Jiménez Martínez	Médico Epidemiólogo
Dr. Waldo Fonseca	Médico General



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!

2010:
AÑO DE LA
SOLIDARIDAD
Viva Nicaragua Libre!

Acuerdo Ministerial No. 309-2010

ACUERDO MINISTERIAL
No. 309 - 2010

SONIA CASTRO GONZALEZ, Ministra de Salud, en uso de las facultades que me confiere la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 102 del tres de Junio de mil novecientos noventa y ocho, Decreto No. 25-2006 "Reformas y Adiciones al Decreto No. 71-98, Reglamento de la Ley No. 290, "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicado en "La Gaceta", Diario Oficial, Nos. 91 y 92 del once y doce de Mayo, respectivamente, del año dos mil seis, la Ley No. 423 "Ley General de Salud", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 91 del diecisiete de mayo del año dos mil dos, el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", publicado en "La Gaceta" Diario Oficial, Nos. 7 y 8 del diez y trece de Enero del año dos mil tres, respectivamente.

CONSIDERANDO:

I

Que la Constitución Política de la República de Nicaragua, en su Arto. 59, partes conducentes, establece que: "Los nicaragüenses tienen derecho, por igual, a la salud. El Estado establecerá las condiciones básicas para su promoción, protección, recuperación y rehabilitación. Corresponde al Estado dirigir y organizar los programas servicios y acciones de salud".

II

Que la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", en su arto. 26, incisos b), d) y e), establece que al Ministerio de Salud le corresponde: b) Coordinar y dirigir la ejecución de la política de salud del Estado en materia de promoción, protección, recuperación y rehabilitación de la salud; d) Organizar y dirigir los programas, servicios y acciones de salud de carácter preventivo y curativo y promover la participación de las organizaciones sociales en la defensa de la misma; y e) Dirigir y administrar el sistema de supervisión y control de políticas y normas de salud."

III

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su Artículo 1, Objeto de la Ley, establece que la misma tiene por objeto "tutelar el derecho que tiene toda persona de disfrutar, conservar y recuperar su salud, en armonía con lo establecido en las disposiciones legales y normas especiales, y que para tal efecto regulará: a) Los principios, derechos y obligaciones con relación a la salud; y b) Las acciones de promoción, prevención, recuperación y rehabilitación de la salud".



Nicaragua en el Alba
CRISTIANA,
SOCIALISTA,
SOLIDARIA!



MINISTERIO DE SALUD

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción
Alcalá", Costado Oeste Colonia Primero de
Mayo, Managua, Nicaragua.
Tel: PBX (505) 22894700.
Apartado Postal 107. www.minsa.gob.ni



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!

2010:
AÑO DE LA
SOLIDARIDAD
Viva Nicaragua Libre!

Acuerdo Ministerial No. 309-2010

IV

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su **Artículo 2, Órgano Competente**, establece que "El Ministerio de Salud es el órgano competente para aplicar, supervisar, controlar y evaluar el cumplimiento de la presente Ley y su Reglamento; así como para elaborar, aprobar, aplicar, supervisar y evaluar normas técnicas, formular políticas, planes, programas, proyectos, manuales e instructivos que sean necesarios para su aplicación."

V

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su **Artículo 4, Rectoría**, señala que: "Corresponde al Ministerio de Salud como ente rector del sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las instituciones que conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales"; y el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", en su Arto. 19, numeral 17, establece: "**Artículo 19.-** Para ejercer sus funciones, el MINSA desarrollará las siguientes actividades: 17. Elaborar las políticas, planes, programas, proyectos nacionales y manuales en materia de salud pública en todos sus aspectos, promoción, protección de la salud, prevención y control de las enfermedades, financiamiento y aseguramiento."

VI

Que el Ministerio de Salud, en virtud de las facultades dadas en los Artos. 2 y 4 de la Ley No. 423, Ley General de Salud", ha elaborado el Manual de Procedimiento para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscofia, con el objeto de valorar y evaluar la realización del diagnóstico de laboratorio con la calidad científica requerida, como componente importante para la reducción de la transmisión de la tuberculosis en el país.

VIII

Que con fecha 27 de Septiembre del 2010, la Dirección General de Regulación Sanitaria, solicitó se elaborara el Acuerdo Ministerial que aprobara el documento denominado "Manual de Procedimiento para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscofia".



Nicaragua en el Alba
**CRISTIANA,
SOCIALISTA,
SOLIDARIA!**



MINISTERIO DE SALUD

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción Palacios", Costado Oeste Colonia Primero de Mayo, Managua, Nicaragua.
Tel: PBX (505) 22894700.
Apartado Postal 107. www.minsa.gob.ni

Manual de procedimiento para el diagnóstico de la tuberculosis por baciloscopía



Gobierno de Reconciliación
y Unidad Nacional

El Pueblo, Presidente!

2010:
AÑO DE LA
SOLIDARIDAD
Viva Nicaragua Libre!

Acuerdo Ministerial No. 309- 2010

Por tanto, esta Autoridad,

ACUERDA:

- PRIMERO:** Se aprueba el documento denominado "Manual de Procedimiento para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscopía", el cual forma parte integrante del presente Acuerdo Ministerial.
- SEGUNDO:** Se designa a la Dirección General de Regulación Sanitaria, para que dé a conocer el presente Acuerdo Ministerial y el referido documento a los directores de SILAIS y a los directores de establecimientos de salud públicos y privados que cuentan con laboratorios para realizar Baciloscopía para el diagnóstico de la tuberculosis.
- TERCERO:** Se designa al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR), para la implementación y monitoreo de la aplicación y cumplimiento del Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscopía, estableciendo las coordinaciones necesarias con los SILAIS.
- CUARTO:** El presente Acuerdo Ministerial entrará en vigencia a partir de su firma.

Comuníquese el presente, a cuantos corresponda conocer del mismo.

Dado en la ciudad de Managua, a los veintisiete días del mes de Septiembre del año dos mil diez.


SONIA CASTRO GONZALEZ
MINISTRA DE SALUD


**PODER
CIUDADANO**
*Nicaragua
Gana con Voz!*

*Nicaragua
en el Alba*
**CRISTIANA,
SOCIALISTA,
SOLIDARIA!**

MINISTERIO DE SALUD
Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción
Palacios", Costado Oeste Colonia Primero de
Mayo, Managua, Nicaragua.
Tel: PBX (505) 22894700. 3
Apartado Postal 107, www.minsa.gob.ni

Tabla de contenido

PRESENTACION.....	1
INTRODUCCION	2
SOPORTE JURÍDICO	3
JUSTIFICACIÓN:.....	7
POBLACION OBJETO.....	7
CAMPO DE APLICACIÓN	7
DISPOSICIONES.....	8
A. GENERALES:.....	8
B. ESPECIFICAS.....	9
LA TUBERCULOSIS	1
MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO	3
MICROSCOPIO	4
INSTRUCCIONES AL TÉCNICO DEL LABORATORIO	7
EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS NECESARIOS	8
LA MUESTRA	9
OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	10
ENVÍO DE MUESTRAS PARA CULTIVO	12
REGISTRO DE LAS MUESTRAS.....	13
PREPARACIÓN DE LOS FROTIS.....	14
PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE LOS FROTIS.....	15
PREPARACIÓN DE UN EXTENDIDO DE ESPUTO POR EL MÉTODO ZIELHL-NEELSEN	16
RECOMENDACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LOS FROTIS	17
PROCEDIMIENTO DE COLORACIÓN.....	18
EXAMEN AL MICROSCOPIO	21
REPORTE DEL EXAMEN	23
DESINFECCIÓN Y ELIMINACIÓN DEL MATERIAL CONTAMINADO	24
PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS	26
ANEXOS	27
Bibliografía	30

PRESENTACION

El Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional y el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) tienen el agrado de presentar a todo el personal de salud y con especial énfasis a los que trabajan en la lucha contra la tuberculosis, la sexta edición del “Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de la Tuberculosis por Baciloscopía”.

Este Manual ha sido un esfuerzo del colectivo de trabajadores del Departamento de Micobacterias del CNDR, dirigido por el Dr. Luis Chacón, médico con especialidad en Microbiología. Hemos recibido el apoyo financiero del Fondo Mundial (FM), lo cual agradecemos en nombre del Ministerio de Salud y del pueblo de Nicaragua.

La lucha contra la tuberculosis debe ser un esfuerzo conjunto, en el que cada miembro de la comunidad, cada trabajador de la salud unen sus esfuerzos, para lograr el mayor impacto contra esta enfermedad, en la forma mas eficiente y con los recursos disponibles. Es por eso que el trabajo que se nos ha asignado, debe ser cumplido con responsabilidad.

Esperamos que este Manual sea de gran utilidad para el personal técnico de laboratorio que trabajan en el diagnóstico de la Tuberculosis por baciloscopía, lo cual redundará en beneficio de los pacientes y de toda la colectividad nicaragüense.

Sonia Castro

Ministra de Salud

INTRODUCCION

Tratando de mejorar la calidad del diagnóstico de la tuberculosis por medio de la baciloscopía en los servicios de salud, publicamos esta sexta edición del “Manual de Procedimientos para el Diagnostico de la Tuberculosis por Baciloscopía”, con el objetivo de que los técnicos que realizan baciloscopías, tengan una guía práctica para el desarrollo y evaluación de su trabajo.

Estos procedimientos, han sido revisados por el colectivo del Departamento de Micobacterias del CNDR y son evaluados periódicamente para mejorarlos y hacerlos fácilmente comprensibles para todos los técnicos que trabajan en los laboratorios de los servicios de salud del país; se basan en nuestra realidad, en la observación de los principales problemas con los que se encuentran a diario el trabajador de laboratorio y en nuestra experiencia adquirida durante las supervisiones y los cursos de capacitación.

Este manual es una herramienta mas, para el trabajo diario, el cual debemos brindar siempre con responsabilidad, calidad y calidez, a fin de contribuir al bienestar y recuperación del paciente.

SOPORTE JURÍDICO

El presente Manual de Procedimientos para el diagnóstico de la Tuberculosis por baciloscopia se sustenta en los siguientes cuerpos legales, citándose las normas o artículos pertinentes:

1. CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE NICARAGUA

Artículo 59.- [Derecho a la salud]

Los nicaragüenses tienen derecho, por igual, a la salud. El Estado establecerá las condiciones básicas para su promoción, protección, recuperación y rehabilitación.

Corresponde al Estado dirigir y organizar los programas, servicios y acciones de salud y promover la participación popular en defensa de la misma.

Los ciudadanos tienen la obligación de acatar las medidas sanitarias que se determinen.

Artículo 105. [Servicios públicos] (Párrafos segundo y tercero).

Los servicios de educación, salud y seguridad social, son deberes indeclinables del Estado, que está obligado a prestarlos sin exclusiones, a mejorarlos y ampliarlos. Las instalaciones e infraestructura de dichos servicios propiedad del Estado, no pueden ser enajenadas bajo ninguna modalidad.

Se garantiza la gratuidad de la salud para los sectores vulnerables de la población, priorizando el cumplimiento de los programas materno - infantil. Los servicios estatales de salud y educación deberán ser ampliados y fortalecidos. Se garantiza el derecho de establecer servicios privados en las áreas de salud y educación.

2. LEY NO. 423, LEY GENERAL DE SALUD, PUBLICADA EN LA GACETA NO. 91 DEL 17 DE MAYO DEL 2002.

Artículo 1.- Objeto de la Ley: La presente Ley tiene por objeto tutelar el derecho que tiene toda persona de disfrutar, conservar y recuperar su salud, en armonía con lo establecido en las disposiciones legales y normas especiales.

Artículo 2.- Órgano Competente: El Ministerio de Salud es el órgano competente para aplicar, supervisar, controlar y evaluar el cumplimiento de la presente Ley y su Reglamento; así como para elaborar, aprobar, aplicar, supervisar y evaluar normas técnicas, formular políticas, planes, programas, proyectos, manuales e instructivos que sean necesarios para su aplicación.

Artículo 4.- Rectoría: Corresponde al ministerio de Salud como ente rector del Sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las

instituciones que conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales.

Artículo 5.- Principios Básicos: Son principios de esta Ley:

7. Calidad: Se garantiza el mejoramiento continuo de la situación de salud de la población en sus diferentes fases y niveles de atención conforme la disponibilidad de recursos y tecnología existente, para brindar el máximo beneficio y satisfacción con el menor costo y riesgo posible.

10. Responsabilidad de los Ciudadanos: Todos los habitantes de la República están obligado a velar, mejorar y conservar su salud personal, familiar y comunitaria, así como las condiciones de salubridad del medio ambiente en que viven y desarrollan sus actividades.

Artículo 7.- Son Competencias y Atribuciones del Ministerio de Salud:

1.- Regular, Supervisar, e intervenir en el sector de Sector de Salud, y en particular ser la autoridad competente para la aplicación y el control del cumplimiento de las disposiciones de la presente Ley, su reglamento o normas que de ella emanen, sin perjuicio de las facultades y obligaciones que leyes especiales otorguen a otros organismos públicos dentro de sus respectivas competencias. Para estos efectos, se entiende como autoridades en salud, las personas o instituciones con funciones, facultades o competencias expresadas de expedir o aplicar la regulación en materia de políticas en salud.

6.- Expedir las normas de organización y funcionamiento técnico administrativo, operativo y científico de las Instituciones Proveedoras de Servicios de Salud de naturaleza pública.

12.- Regular, cuando resulte necesario para los principios de esta Ley, las actividades con incidencia directa o indirecta sobre la salud de la población, que realice o ejecute toda persona natural o jurídica, pública o privada.

3. DECRETO NO. 001-2003, REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD, PUBLICADO EN LA GACETA NUMEROS 7 Y 8 DEL 10 Y 13 DE ENERO DEL 2003.

Artículo 19.- Para ejercer sus funciones, el MINSA desarrollará las siguientes actividades:

1. Regular la provisión de los servicios de salud.

4. Orientar, regular y coordinar los integrantes del sector salud en la realización de acciones dirigidas a:

4.1- Promoción, prevención, tratamiento y rehabilitación.

6. Liderar y desarrollar procesos de seguimiento, vigilancia, control y evaluación sobre la aplicación de políticas de salud, incluyendo acciones de vigilancia de la salud y metas de cobertura.
7. Promover la participación de la comunidad del sector salud en el diseño de las políticas, planes y programas de salud necesarios para su implementación.

Artículo 73.- Son proveedores de servicios de salud, las personas naturales o jurídicas, públicas, privadas o mixtas, que estando habilitados por el MINSA, tienen por objeto la provisión de servicios en sus fases de promoción, protección, recuperación y rehabilitación de la salud que requiera la población. Se incluye cualquier otro establecimiento cuya actividad sea brindar servicios que incidan de manera directa o indirecta en la salud del usuario.

De las Enfermedades Transmisibles

Artículo 202.- Toda persona natural o jurídica para prevenir la aparición y propagación de enfermedades transmisibles deberá cumplir con:

1. La notificación inmediata de enfermedades.
2. Las medidas preventivas que la autoridad sanitaria ordene cuando se presente una enfermedad en forma esporádica, endémica o epidémica.
3. Las medidas preventivas que la autoridad de salud ordene a fin de ubicar y controlar focos infecciosos, vehículos de transmisión, huéspedes y vectores de enfermedades contagiosas o para proceder a la destrucción de tales focos y vectores, según proceda.

Artículo 203.- Toda persona deberá, dar cumplimiento a las prácticas de higiene personal destinadas a prevenir la aparición y propagación de enfermedades transmisibles, la contaminación de vehículos de infección, como el agua, alimentos; infestación y contaminación de bienes muebles e inmuebles y la formación de focos de infección.

Artículo 204.- Toda persona deberá someterse a los exámenes de salud que el MINSA ordene por estimarlos necesarios, de acuerdo al manual respectivo.

Artículo 205.- En caso de sospecha o confirmación de un caso de enfermedad transmisible de notificación obligatoria, el médico tratante deberá ordenar las medidas necesarias para evitar la propagación de la enfermedad, de acuerdo con los manuales elaborados por las autoridades sanitarias.

Artículo 206.- Las personas afectadas por enfermedades transmisibles de notificación obligatoria, deberán someterse a las medidas de aislamiento cuando y en la forma que la autoridad sanitaria lo disponga.

Se entiende por aislamiento, la separación del o los enfermos, durante el período de

contagio, en lugares y bajo condiciones que eviten la transmisión directa o indirecta del agente infeccioso a personas o animales que sean susceptibles o que puedan transmitir la enfermedad a otros.

Artículo 207.- En los casos que sea requerida la internación del paciente se hará en establecimientos de salud públicos; en los casos que el paciente decida ser atendido en un establecimiento de salud privado, éste no podrán negarse a prestar tal servicio y a cumplir con lo establecido en los manuales definidos por el MINSA.

Artículo 208.- Las personas afectadas por enfermedades transmisibles están obligadas a someterse al tratamiento correspondiente, pudiendo utilizar para tal efecto los servicios públicos de salud en la forma que se establezca en manuales que para tal fin se elaboren.

Artículo 209.- Las personas que hayan estado en contacto directo o indirecto con personas que padezcan de enfermedad transmisible de denuncia obligatoria, serán consideradas para los efectos de este reglamento como contactos y deberán someterse a las medidas de observación y control que la autoridad de salud indique.

Deberán asimismo informar y facilitar la acción de la autoridad sanitaria, cuando se trate de establecer la cadena epidemiológica de las enfermedades transmisibles, especialmente la de las infecciones de transmisión sexual.

JUSTIFICACIÓN:

El presente Manual está enfocado a obtener resultados confiables en la lectura en las muestras para el diagnóstico de la tuberculosis y ayudar a la Captación de pacientes a través del resultado positivo de baciloscopía para tener resultados confiables que ayuden a diagnosticar los pacientes sospechosos

POBLACION OBJETO

Profesionales y técnicos de laboratorio que realizan baciloscopía a nivel público y privado.

CAMPO DE APLICACIÓN

Manual de procedimiento para el diagnostico de tuberculosis por baciloscopía tienen por objetivo uniformar las actividades, criterios y estrategias del Ministerio de Salud, en relación con la disposición del diagnostico de Tuberculosis por baciloscopía.

Este manual es de observancia obligatoria para todos los establecimientos del sector público y privados

DISPOSICIONES

A. GENERALES:

1. La habilitación de establecimientos de salud, entre ellos los laboratorios clínicos o de análisis clínicos la otorga la autoridad sanitaria correspondiente, y es de carácter obligatorio.
2. Todo establecimiento proveedor de servicios de salud que posea instalaciones para medios de diagnóstico está sujeto a la regulación sanitaria.
3. Para brindar u ofrecer servicios medios de diagnóstico en salud, debe cumplir con los requisitos legales de infraestructura, equipos, recursos humanos, establecido en el Manual de Habilitación de Establecimientos Prestadores de Servicios de Salud.
4. Los estándares de habilitación estarán disponibles en la página Web del Ministerio de Salud.
5. Los SILAIS son los responsables de mantener actualizado el censo de establecimientos del territorio que tienen adscrito.
6. Todo establecimiento que posea instalaciones para medios de diagnóstico estará sujeto a visitas de control y monitoreo aleatorio de forma permanente sin previo aviso, a fin de verificar el sostenimiento y cumplimiento de los estándares de habilitación.
7. Los SILAIS con sus inspectores de habilitación deben dar seguimiento al cumplimiento de los estándares de habilitación en los establecimientos de salud.
8. La licencia de funcionamiento de un establecimiento de salud tiene una vigencia indefinida; puede ser suspendida de acuerdo a resultados de supervisiones de control.

B. ESPECIFICAS

1. El servicio de Laboratorio está bajo la Dirección Técnica del/los profesional/es autorizado/s que cumple/n los requisitos legales.
2. En el laboratorio se desempeñan técnicos diplomados o que han recibido el Entrenamiento necesario para el buen desarrollo de las tareas que realiza.
3. El laboratorio cuenta con personal administrativo necesario para un buen desempeño, o el profesional desempeña esas tareas.
4. Cuenta con personal de limpieza acorde con las necesidades del servicio.
5. Es obligatorio disponer de mobiliario, equipo y accesorios especificados en el formato de estándares.
6. Debe funcionar en áreas climatizadas principalmente el área de análisis.
7. Si el laboratorio forma parte de un inmueble mayor o existen otros servicios, se requiere de un circuito eléctrico independiente y exclusivo. La instalación eléctrica se realiza tomando en cuenta la corriente máxima que demanden los equipos del laboratorio cuando estén funcionando al mismo tiempo, de lo cual dependen los calibres del cableado y la capacidad de los sistemas de protección contra corto circuito; contactos eléctricamente polarizados en número suficiente y distribuido adecuadamente para los equipos que lo necesitan, no debe utilizarse extensiones eléctricas. Como mínimo el 20% de las instalaciones, priorizando refrigeradoras, estufas donde se procesen cultivos, está conectado al sistema de energía alterna para casos de emergencia.
8. Debe disponer instalaciones apropiadas de agua potable y sistema de drenaje para los tipos de aparatos, materiales y reactivos que se utilicen, facilidades para lavado de las manos, la cara y en particular los ojos en situaciones de emergencia.
9. Deben contar con extinguidores para conatos de incendios.
10. Cuando el laboratorio esté ubicado en un establecimiento que brinde el servicio de hospitalización, funcionara las 24 horas, de forma ininterrumpida.
11. Los laboratorios deben contar con las siguientes áreas:
 - Área de espera
 - Área de recepción de muestra
 - Área de toma de muestra
 - Área de análisis
 - Área de lavado y esterilización,
 - Área de aseo.

Área de espera: dispone de mobiliario y espacio suficiente acorde a la demanda y servicios sanitarios para los usuarios.

Recepción de muestras: se ubica inmediato a la sala de espera, dispone de mesa de trabajo con bandejas para recepcionar las muestras y materiales estériles.

Área de toma de muestra: ubicada contigua al área de recepción de muestras, con entrada desde la sala de espera, en esta arrea debe haber una pantry con pana doble de acero inoxidable, se calcula que por hora se toman entre 14 y 16 muestras para el cálculo de sillas de toma de muestras.

Área de análisis: el área de análisis de microbiología y bacteriología deben estar en cuartos separados de las otras áreas de análisis para evitar la contaminación de las muestras, en cada área de análisis se debe tener las mesas de trabajo con sus panas de acero inoxidable conectados al sistema hidrosanitario, estas áreas deben ser climatizadas.

Área de lavado y esterilizado debe estar separada de las áreas de análisis, para evitar que el calor del esterilizador altere la composición de los reactivos.

LA TUBERCULOSIS

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

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

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

Síntomas más frecuentes:

- Tos persistente por más de 14 días (SR + 14), con expectoración mucopurulenta, a veces con estrías de sangre en casos avanzados.
- Dolor en el pecho
- Pérdida del apetito y pérdida de peso
- Sudoración nocturna y a veces febrículas

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

El tratamiento usado en Nicaragua, es a base de isoniacida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (ETB) y pirazinamida (PZ) durante 6 meses, tratamiento acortado estrictamente supervisado (TAES), lográndose una completa curación del paciente.

Para prevenir la enfermedad y lograr su disminución en la comunidad, es muy importante el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con tuberculosis bacilíferos (infectantes) lo mas pronto posible. También otro elemento fundamental para la prevención de ésta enfermedad, es la vacunación con BCG (Bacilo Calmette-Guerin) y la educación del paciente, de la familia y de la comunidad.

COMPONENTE DE TUBERCULOSIS

La Tuberculosis en Nicaragua, esta entre las 15 primeras causas de enfermedad y para combatir el MINSA ha establecido un programa de lucha, el cual tiene los siguientes objetivos generales:

1. Disminuir la morbilidad y mortalidad por Tuberculosis
2. Reducir la transmisión de la Tuberculosis en el país

Y las siguientes cinco actividades básicas:

1. Búsqueda y captación de casos
2. Diagnóstico de casos
3. Tratamiento de todos los casos descubiertos
4. Prevención, que se realiza por medio de:
 - a) Vacunación con BCG, a todo recién nacido
 - b) Control de foco y búsqueda de otros casos entre las personas que viven en la misma casa del enfermo TB bacilífero.
5. Educación en salud

Red de laboratorios

Para confirmar el diagnóstico de los casos, es fundamental tener organizada una red de laboratorios en todo el territorio nacional con una sola metodología de trabajo y técnicos con la capacitación necesaria, que realice la baciloscopia de los pacientes sintomáticos respiratorios (SR) sospechosos de padecer de tuberculosis, y que además emita un resultado confiable y oportuno.

El Centro Nacional de Diagnostico y Referencia (CNDR), es la unidad central de la Red Nacional de Laboratorios del Ministerio de Salud (MINSA) de Nicaragua, responsable de la normación y control de calidad, así como la unidad de referencia a nivel nacional. En el Departamento de Micobacterias, se realizan las siguientes actividades:

1. Diagnóstico de Tuberculosis por medio de la baciloscopia
2. Cultivo de micobacterias
3. Identificación de *M. tuberculosis* y de micobacterias no tuberculosas
4. Pruebas de susceptibilidad del *M. tuberculosis*
5. Control de calidad de las baciloscopías realizadas en la Red de servicios de salud del país
6. Supervisión y apoyo a Centros Regionales y laboratorios de los servicios de salud
7. Docencia técnica y de Pre-grado
8. Elaboración y actualización de procedimientos técnicos
9. Investigaciones aplicadas
10. Preparación colorantes, de medios de cultivo y de reactivos
11. Control de calidad de colorantes, medios de cultivo y reactivos
12. Suministro de colorantes y reactivos sin costo alguno

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN EL LABORATORIO

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

Algunas fuentes comunes de producción de aerosoles en los laboratorios son:

- La apertura de los frascos de presión con muestras de esputo
- Durante el flameado de las asas metálicas

Para la máxima protección del personal del laboratorio, se deben cumplir las siguientes medidas:

1. No comer ni fumar dentro del área de trabajo
2. El local de trabajo, debe ser bien ventilado
3. No sentarse sobre las mesas de trabajo
4. Usar siempre la gabacha de trabajo en el laboratorio
5. Lavado frecuente de las manos con agua y jabón
6. Después de terminar el trabajo diario, limpiar con fenol al 4% las mesas y los materiales utilizados. También se puede usar cloro al 0.5%, pero es corrosivo con los objetos metálicos
7. Eliminar del local, todo mobiliario o material innecesario
8. Limpiar el piso con un lampazo mojado, puede echársele fenol al 4% o creolina al 3%
9. El área de trabajo, debe mantenerse limpia y ordenada
10. Limitar la entrada de personal ajeno al laboratorio
11. Todo material contaminado descartado: laminas portaobjetos, frascos recolectores de esputo, etc., antes de salir del laboratorio deben recibir algún tratamiento de descontaminación con fenol al 4. 0 % o hipoclorito de sodio al 0.5 % y ser colocados en un recipiente especial.
12. Ningún equipo de protección, sustituye el orden, cuidado y precaución que debe tener cada técnico, al realizar su trabajo.
13. Cada técnico es responsable de su propia seguridad y de la de sus compañeros de trabajo.
14. El jefe de laboratorio, es el responsable del cumplimiento de las medidas de bioseguridad
15. Cuando se derrame una muestra en el piso o en la mesa, verter fenol al 4%, cubrir con papel periódico, empapar cuidadosamente el papel y dejarlo durante una hora, antes de limpiar el área.

MICROSCOPIO

El microscopio es el instrumento fundamental del trabajo en el laboratorio. Existen diversos tipos de microscopios:

1. Microscopio simple: es un sencillo lente de aumento o lupa
2. Microscopio compuesto:
 - a) Estereoscopio
 - b) De luz visible
 - De campo claro
 - De campo oscuro
 - De contraste de fases
 - c) De luz ultravioleta
3. Microscopio electrónico

Partes del Microscopio de Campo Claro

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

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

- | | |
|--|---|
| <p>1) Parte Mecánica:</p> <ul style="list-style-type: none">- Base o soporte del microscopio;- Platina;- Carro mecánico- Tornillo macrométrico- Tornillo micrométrico;- Brazo | <p>2) Parte Óptica:</p> <ul style="list-style-type: none">- Oculares- Objetivos- Condensador- Fuente de luz- Prisma (dentro del tubo binocular) |
|--|---|

Existen varias marcas de microscopios, a todos se les debe de dar cuidado y mantenimiento adecuado.

MICROSCOPIO Y SUS PARTES

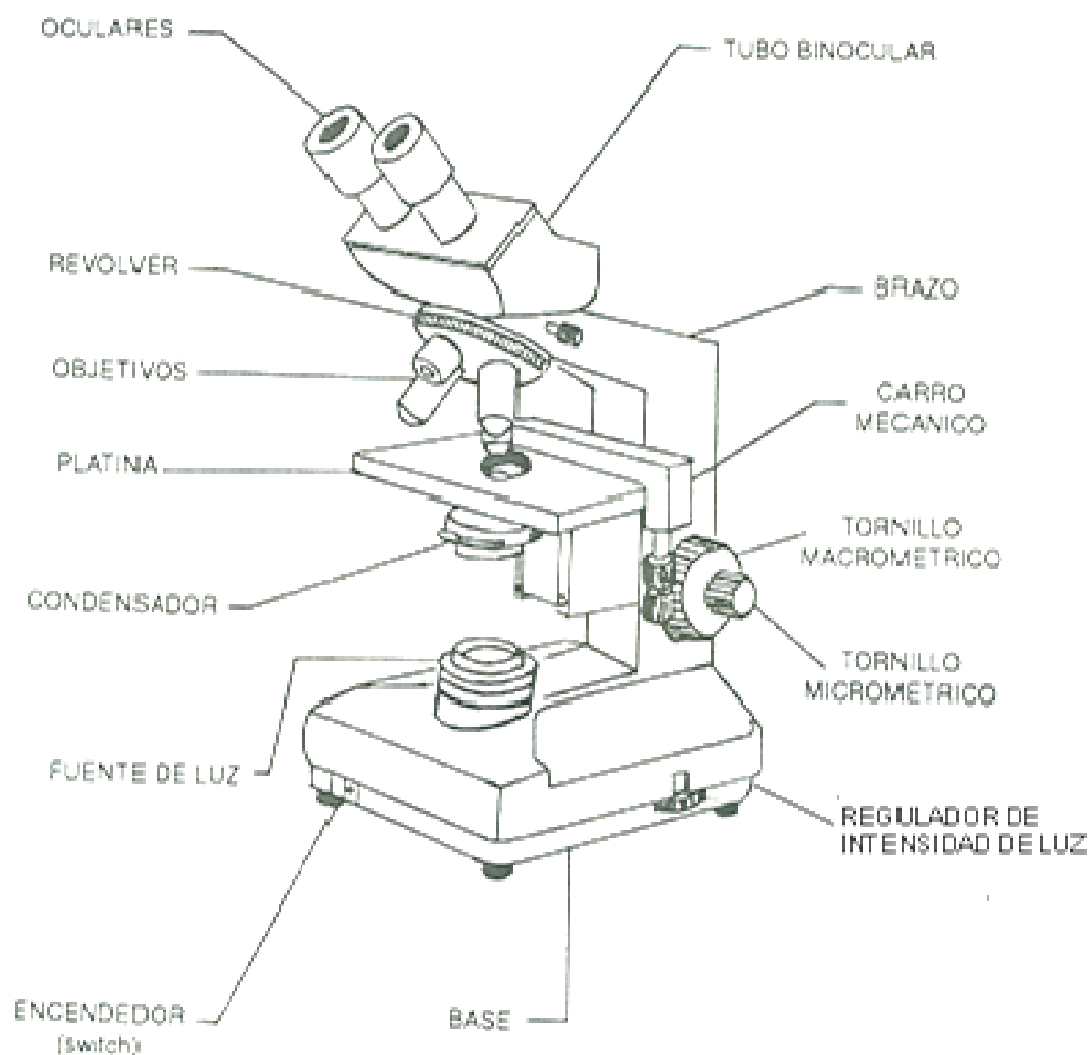


Fig. 1 partes del Microscopio de Campo Claro

CUIDADO Y MANTENIMIENTO DEL MICROSCOPIO

El microscopio debe conservarse cuidadosamente, tanto en su aspecto mecánico, como en el aspecto óptico.

- 1) Guardarlo cubierto con su protector de plástico o con un lienzo preferiblemente dentro de una caja de madera. En lugares húmedos, debe colocarse una bujía de 15 o 25 watts dentro de la caja, para conservar una temperatura entre 25 y 35° C.
- 2) El lente de inmersión debe limpiarse después de finalizada la lectura de cada examen microscópico, con un papel para limpiar lentes (o con papel higiénico, papel filtro, algodón, una tela suave), sin frotar la superficie, solamente aplicando una ligera presión para eliminar el aceite.
- 3) Cuando se cambia lámina, debe bajarse primero la platina, luego sacar la lámina y colocar la otra; enfocar de nuevo para evitar dañar la superficie del lente de inmersión.
- 4) Si la superficie de los oculares, condensador, filtro, se manchan de grasa, pueden limpiarse con algodón, ligeramente humedecidos con alcohol o xilol, NO UTILIZAR NINGUN OTRO SOLVENTE ORGANICO. También se puede usar una mota pequeña de algodón humedecida con un detergente sin cloro y luego secar con otra mota ligeramente humedecida pero sin detergente.
- 5) La superficie de las lentes, no deben tocarse con los dedos.
- 6) Cuando se traslade de lugar, el microscopio debe sostenerse con una mano el brazo y con la otra sostenerlo de la base.
- 7) Al terminar el trabajo del día, debe limpiarse bien todo el microscopio, incluyendo lentes de inmersión, platina, base, etc. con mucho cuidado.
- 8) En caso de observar algún defecto, reportarlo a la unidad técnica especializada; por ningún motivo tratar de desarmarlo
- 9) Las superficies pintadas o de plástico, se deben limpiar con un trapo húmedo con detergente. No deben utilizarse soluciones orgánicas.
- 10) En caso de tener necesidad de cambiar la bujía del microscopio, ver anexo 2
- 11) Es estrictamente prohibido, desarmar cualquier componente o desmontar piezas del microscopio

INSTRUCCIONES AL TÉCNICO DEL LABORATORIO

1. A cada paciente, se le deben dar explicaciones claras sobre como recolectar la muestra de esputo, mientras mejor sea la muestra, mas fácil será su lectura microscópica
2. La recolección de la primera muestra de esputo, se efectuará el mismo día de la consulta del paciente, y se le entregará otro frasco, rotulado con el número asignado
3. Cuando la muestra es solamente saliva, se debe recibir, y explicar al paciente, en forma clara, como debe recoger la próxima muestra
4. Se debe brindar una buena atención al paciente; la amabilidad enaltece el prestigio del laboratorio, desarrolla la confianza del paciente y refleja una buena imagen del técnico.
5. El laboratorio es el medio fundamental para el diagnóstico de la Tuberculosis, y se debe estar consciente de la gran responsabilidad que el técnico asume
6. El técnico debe solicitar con suficiente anticipación los colorantes que necesita, antes de que estos se le terminen. No se justifica que falten los colorantes y se dejen de realizar las baciloscopías.
7. Para hacer el pedido de colorantes a utilizar, se estima el siguiente gasto por cada lamina:
 - carbol- fucsina 2 ml
 - alcohol -ácido 4 ml
 - azul de metileno 2 ml

Se saca un promedio de baciloscopías realizadas por mes y se hace el pedido para tres meses. Siempre debe de tenerse colorantes para tres meses de trabajo. Para el cálculo del resto de materiales, ver anexo 1.

8. Mantener la mesa de trabajo limpia y ordenada
9. Mantener los frascos con los colorantes rotulados, y enjuagarlos bien antes de volverlos a rellenar
10. No debe establecerse horarios para la recepción de las muestras ya que estas pueden guardarse para procesarlas al siguiente día, si ya se han procesado las muestras recibidas en ese día.

EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS NECESARIOS

Equipos

- 1.- Microscopio binocular de campo claro
- 2.- Mechero de bunsen o de alcohol
- 3.- Reloj marcador de tiempo de 1 hora
- 4.- Olla de presión u olla corriente de aluminio con capacidad de 4-5 litros

Materiales

- 1.- Puente de tinción
- 2.- Bandeja metálica para la tinción
- 3.- Papelera con tapa
- 4.- Bandeja para descartar laminas
- 5.- Aplicadores de madera
- 6.- Pinzas rectas sin dientes
- 7.- Portaobjetos de 3 x 1 pulg.
- 8.- Frascos de plásticos de 400 ml para los colorantes (3)
- 9.- Lápiz graso
- 10.- Lapicero azul
- 11.- Lapicero rojo
- 12.- Cuaderno de Registro de Laboratorio
- 13.- Formato para resultados
- 14.- Toalla
- 15.- Fósforos
- 16.- Portaláminas
- 17.- Papel para lentes
- 18.- Jabón para manos
- 19.- Algodón
- 20.- Limpiones
- 21.- Beaker de 500 ml.

Reactivos

- 1.- Carbol-fucsina al 0.3%
- 2.- Alcohol-acido al 3%
- 3.- Azul de metileno al 0.3%
- 4.- Fenol al 4%
- 5.- Alcohol para mechero (alcohol puro)
- 6.- Aceite de inmersión
- 7.- Xilol

LA MUESTRA

Para que el laboratorio pueda obtener resultados confiables, no sólo es necesario realizar los procedimientos en forma correcta, sino también que reciba una buena muestra. Es mejor invertir más tiempo en explicarle al paciente como recoger una buena muestra de esputo y preparar un buen frotis, a fin de hacer un examen microscópico más fácil y rápido, que perder mucho mas tiempo en una lectura de un mal frotis por una mala muestra

Tipos de muestra

Las muestras para investigación de *M. tuberculosis* dependen del sitio afectado por la enfermedad, estas muestras pueden ser:

- Esputo: es la mas frecuente, por ser la forma pulmonar la mas común
- Orina
- Jugo gástrico
- Lavado o aspirado bronco-alveolar
- Líquido Céfalorraquídeo (LCR)
- Líquido de derrame pleural
- Líquido peritoneal o ascítico
- Líquido sinovial o articular
- Biopsias de tejidos
- Pus de secreciones
- Otras muestras

En casos sospechosos de tuberculosis extrapulmonar, además de la muestra para baciloscopia, también se debe recoger otra muestra para cultivo.

El frasco para recolectar las muestras:

El tipo de frasco mas adecuado para recolectar las muestras de esputo, debe tener las siguientes características:

- Capacidad entre 30-50 ml
- Tapa de rosca con cierre hermético
- Frasco de plástico, boca ancha, transparente, descartable y resistente.

Los frascos son suministrados gratuitamente por el Componente de Tuberculosis, sin embargo, en caso de faltar éste tipo de frasco, se puede utilizar cualquier otro similar.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Instrucciones para dar al paciente, en forma clara:

- 1- La muestra de expectoración (esputo) para baciloscopía, es preferible que sea tomada después de enjuagarse la boca al despertar por la mañana sin ingerir alimento, sin embargo también se puede recoger a cualquier hora del día.
- 2- Abrir el frasco
- 3- Inspirar profundamente, retener el aire en los pulmones por un instante, y lanzarlo violentamente hacia fuera con un esfuerzo de tos (no saliva, sino desgarró)
- 4- Depositarlo dentro del frasco evitando que se escurra por sus paredes, realizar tres expectoraciones dentro del mismo frasco. Si se escurre por las paredes de afuera, limpiarlo bien con papel, el que debe ser quemado inmediatamente
- 5- El frasco se tapa firmemente y se rotula con el nombre y apellido
- 6- Colocar el frasco en una bolsa de plástico o de papel, cuidando que el frasco este siempre boca arriba
- 7- Lavarse bien las manos
- 8- Llevar el frasco con la muestra al centro o puesto de salud mas cercano, lo mas pronto posible.

Recolección de las muestras de esputo

Una vez hecho el diagnóstico de paciente sintomático respiratorio (SR+14), es indispensable tomar la primera muestra inmediatamente. Para esto se requiere tener los frascos disponibles. Designar un lugar, donde el paciente pueda tomarse la muestra con tranquilidad y se le debe explicar como lo debe hacer. Cada unidad de salud debe, según sus recursos, designar el lugar más adecuado y con buena ventilación, o en un espacio abierto y alejado del resto de pacientes.

El laboratorio debe recibir las muestras durante todo el día, pero no es indispensable procesarlas de inmediato. En los lugares donde no hay laboratorio, la muestra de esputo puede almacenarse a temperatura ambiente, en un lugar fresco y protegido de la luz solar, hasta por 5 días, y en refrigeración, hasta por 7 días.

Volumen y número de muestras

Para el diagnóstico de la Tuberculosis, se deben procesar tres muestras seriadas. La primera muestra se tomara a todo sintomático respiratorio con más de 14 días de evolución, inmediatamente después de la consulta medica y se le entrega otro frasco con su número respectivo. La segunda muestra que el paciente la recoja al siguiente día al levantarse por la mañana, en su casa, y la tercera muestra, se le tomará en el servicio de salud, al momento de entregar la segunda muestra.

Debe obtenerse una muestra de volumen suficiente (5 a 10 ml) que contenga partículas sólidas o purulentas y no solamente saliva.

Para el control dactiloscópico de los pacientes en tratamiento antituberculoso, se recomienda tomar dos muestras seriadas de esputo a los 2, 4 y un mes antes de finalizar el tratamiento. Es posible que el paciente no pueda ya desgarrar (expectorar) por lo que se debe aceptar la saliva como muestra de control.

Otras muestras:

Orina:

Las muestras de orina, es preferible recolectarla de la primera micción por la mañana, en un frasco estéril o limpio de boca ancha, y previo lavado de los genitales externos.

Se recogerán tres muestras seriadas de un volumen de 30 a 50 ml; se centrifugan y del sedimento se colocan unas gotas en una lámina portaobjetos, se deja secar, se fija y se colorea.

Jugo gástrico:

Las muestras de jugo gástrico, es mejor obtenerla por la mañana, antes del desayuno. Si el procedimiento de la siembra de la muestra va a demorar más de dos horas, hay que agregarle al frasco, carbonato de sodio en polvo (aprox. 100 mg) o cualquier otra solución buffer alcalina.

Otros líquidos corporales:

Las muestras de líquido céfalo-raquídeo (LCR), líquido pleural, líquido peritoneal, se recolectan en un tubo de ensayo estéril, con tapa de rosca; se centrifuga y del sedimento se colocan unas gotas en una lámina portaobjetos, se deja secar, se fija y se colorea. Si se dispone de poca muestra, solamente enviar para cultivo, no hacer frotis.

Los frotis directo de jugo gástrico, heces y orina en busca de BAAR, son poco útiles, porque pueden encontrarse bacilos no tuberculosos, debido a la ingestión de éstos bacilos con los alimentos, o como flora transitoria en la mucosa genital, lo que puede conducir a errores.

Toda muestra para baciloscopía, debe ir acompañada de su respectiva hoja de "Pedido de examen bacteriológico (BAAR)", la cual debe ser llenada por el trabajador de salud que ordena la baciloscopía. Es necesario recordar que toda muestra que no sea esputo, debe ordenársele también el cultivo.

La porción para cultivo, de todo tipo de muestra, se debe enviar lo más pronto posible al CNDR, mientras, conservarla en refrigeración.

Transporte y conservación de las muestras

Para el envío de las muestras, el frasco, debe estar debidamente identificados con el nombre y apellido, sexo, edad del paciente y unidad de salud procedente.

Si la muestra para baciloscopía, va a ser transportada a otro lugar o demora en su procesamiento, se debe guardar en frío, para lo cual se colocan en una bandeja o canasta de metal, este tiempo no debe ser mayor de una semana (la liquefacción del esputo disminuye la sensibilidad del examen directo). Si no se dispone de refrigerador, las muestras se podrán guardar a temperatura ambiente en un lugar fresco y oscuro.

Para el traslado, las muestras deben llevarse en caja herméticamente cerradas. Se pueden enviar las láminas fijadas. No se deben usar preservantes químicos. Las ordenes y demás formularios respectivos, deberán enviarse al mismo tiempo que las muestras, pero en un sobre aparte.

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

ENVÍO DE MUESTRAS PARA CULTIVO

Las muestras de esputo para cultivo, deben recogerse preferiblemente en un frasco estéril, si ello no es posible, en un frasco bien lavado y hervido o en el mismo frasco recolector de esputo para baciloscopía; se recoge la muestra y se envía inmediatamente al laboratorio donde se realiza el cultivo. Las muestras de LCR, líquido pleural y líquido peritoneal, se recolectan en un tubo de ensayo estéril, con tapa de rosca; las biopsias se recolectan en un frasco estéril, SIN AGREGARLE NINGUN PRESERVANTE QUIMICO, pero se puede agregar unas gotas de solución salina estéril al 0.9%.

Las muestras de orina, es preferible enviarlas en frascos estériles, tres muestras seriadas, de un volumen de 30 a 50 ml.

Si las muestras para cultivo no se pueden enviar inmediatamente al laboratorio de referencia, pueden almacenarse durante 3 a 4 días, 7 días como máximo, en refrigeración, entre 4° a 8° C, sin embargo, a mayor tiempo de almacenamiento, disminuyen las probabilidades de aislamiento del bacilo en el cultivo. El transporte de la muestra se puede realizar a temperatura ambiente.

Toda muestra que se envíe al laboratorio de referencia para cultivo, debe de ir acompañada del formulario "Pedido de cultivo y/o sensibilidad" detallando en el espacio para la epicrisis, los resultados de las últimas baciloscopías realizadas a ese paciente. Este formulario debe enviarse el juego completo (original y dos copias).

Cuando enviar un Cultivo

- a) Cuando dos seriados (6 BAAR) han resultado negativos, y el médico mantiene la sospecha de tuberculosis
- b) En todo caso de tuberculosis extrapulmonar
- c) En todo caso de tuberculosis infantil
- d) En pacientes que están recibiendo el tratamiento anti-TB, y persiste la baciloscopía positiva al 2º mes de iniciado, para realizar la prueba de sensibilidad.
- e) En pacientes VIH sospechosos de TB pulmonar.

REGISTRO DE LAS MUESTRAS

Es muy importante realizar un registro cuidadoso de todas las muestras recibidas y de las baciloscopías realizadas en el laboratorio, esto debe anotarse en el cuaderno de "Registro del laboratorio de Tuberculosis"

Deben anotarse todos los datos en forma completa, precisa y clara, para la identificación de cada muestra, anotando un paciente por cada línea.

En la columna (1), se anota el número de la lámina, el cual es consecutivo, empezando con el N° 1 el primer paciente del mes de enero, hasta finalizar el 31 de Diciembre. Este mismo número se anota también en la orden de baciloscopia recibida del paciente y en el cuerpo del frasco con la muestra, no debe anotarse en la tapa.

En la columna (2), se anota la fecha en que se inscribe al paciente con la primera muestra.

En la columna (3) Nombres y Apellidos completos del paciente, en forma clara.

En la columna (4), se anota el sexo: M= masculino, F= femenino.

En la columna (5), se anota la edad.

En la columna (6) el Servicio de Salud que ha recogido y enviado la muestra, ya sea un puesto o el mismo Centro de Salud donde está ubicado el laboratorio.

En la columna (7), se anota la dirección del paciente SR, (casos nuevos), especificando el barrio; en el caso de pacientes en control o en seguimiento, no es necesario anotar la dirección.

Marcar con una "x" en la columna (8), si la muestra es de un paciente sintomático respiratorio sospechoso (SR), o en la columna (9), si el paciente esta con tratamiento (en seguimiento), en el Componente de Control de Tuberculosis.

PREPARACIÓN DE LOS FROTIS

Ordenamiento de la mesa de trabajo:

Es recomendable tener sistematizado el orden en que deben de estar los materiales en la mesa de preparación de los frotis, se recomienda tener la mesa ordenada en la siguiente forma:

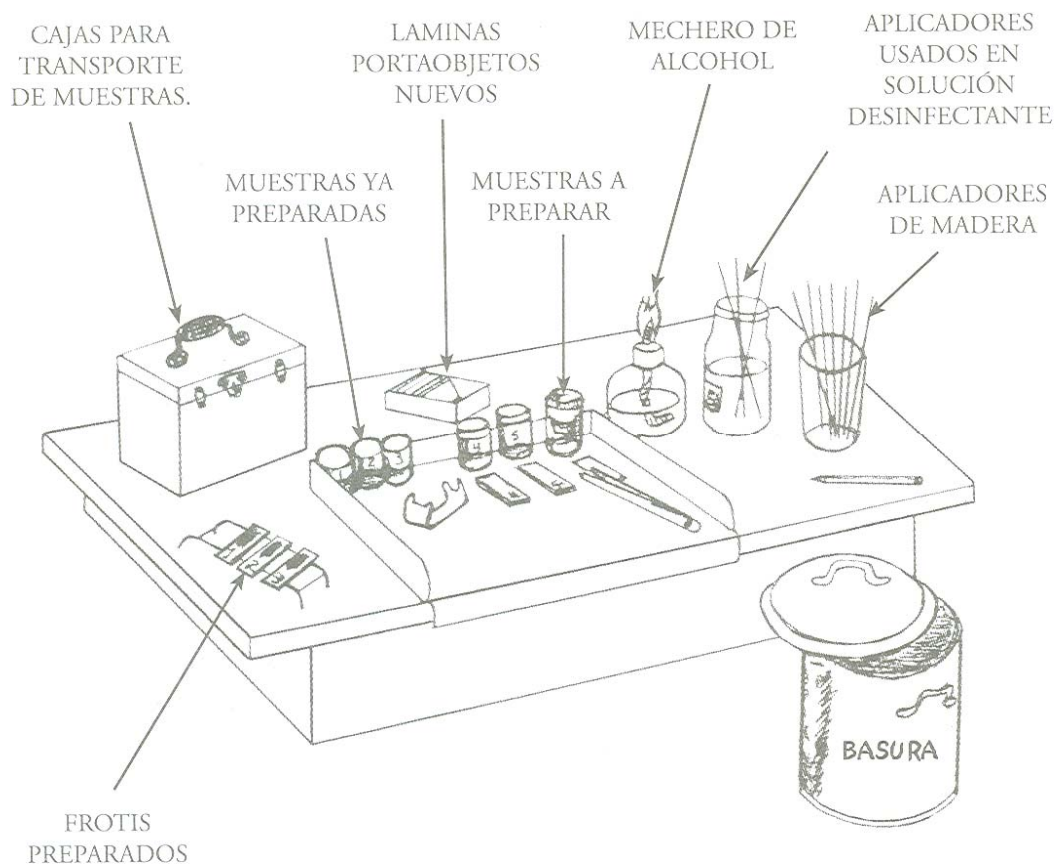


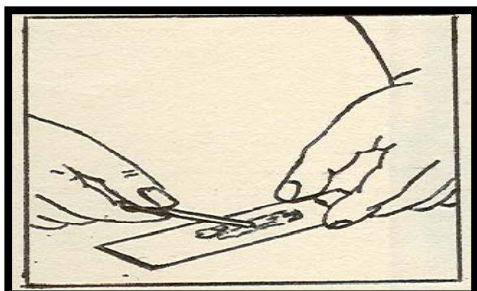
Fig. Ordenamiento de la mesa de trabajo para la preparación de los frotis.

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE LOS FROTIS

1. Los frascos con las muestras, se colocan en la mesa en orden consecutivo de izquierda a derecha
2. Colocar las láminas portaobjetos en la mesa y numerarlas, con los números correspondientes a las muestras, utilizando para ello, un tercio del extremo de la lámina y en el reverso para que al hacer la coloración no se borre.
3. Abrir el frasco que contiene la muestra, teniendo mucho cuidado de no hacerlo en forma brusca y detrás de la llama del mechero.
4. Observar el contenido del frasco y buscar la parte mas purulenta
5. Con un aplicador de madera escoger la porción más purulenta, sólidas o sanguinolentas. No se debe batir la muestra.
6. Extender la muestra en un frotis de una capa no muy gruesa, sobre dos tercios de la lamina (fig. 1). No debe llegar hasta los bordes
7. Si es necesario, desmenuzar las partículas grandes con las puntas de un aplicador quebrado por la mitad
8. Desechar el aplicador de madera, en un frasco de boca ancha con fenol al 4% o en una bolsa de papel, junto con el resto del material desechable que se utilice, y terminado el trabajo del día, proceder a esterilizarlos o quemarlos diariamente.
9. Dejar secar el frotis
10. Tomar la lámina por el extremo numerado y con el lado que contiene la muestra, hacia arriba
11. Pasarla tres veces a través de la llama del mechero para fijar el frotis; no excederse de mas de 3 – 5 segundos en el calentamiento (fig. 2)
12. Dejar enfriar el frotis por 2 – 3 minutos

Nota: Los frascos con las muestras se deben guardar hasta que se realice la lectura del frotis, después se descartan.

PREPARACIÓN DE UN EXTENDIDO DE ESPUTO POR EL MÉTODO ZIELHL-NEELSEN



FIJACION

Fig. 1- Con un aplicador de madera, colocar sobre un portaobjetos limpio y rotulado con su número respectivo, una pequeña porción de la parte más espesa y purulenta de la muestra. Hacer un extendido ni muy fino ni muy grueso, rectangular, de aprox. 2x1cm y dejarlo secar.

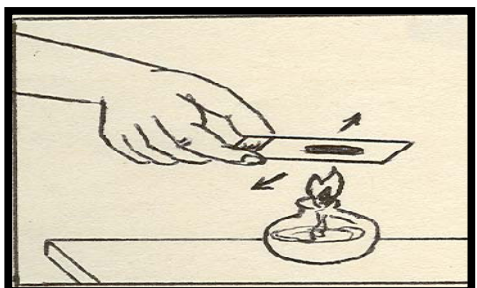
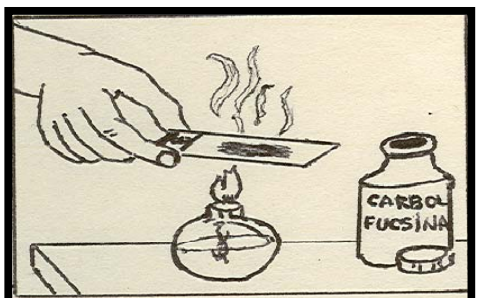


Fig. 2- Fijar el extendido pasando la lámina por la llama de un mechero, tres veces.



COLORACION:

Fig. 3- Cubrir el extendido con carbol-fucsina filtrada y calentar con un mechero hasta que comience a desprender vapores. Retirar la llama. NO RECALENTAR.

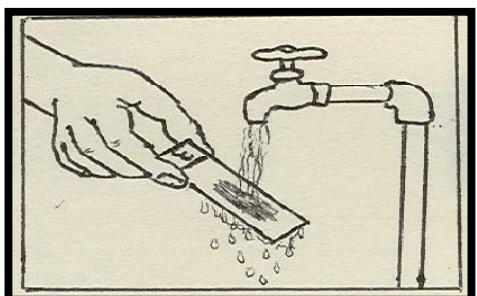
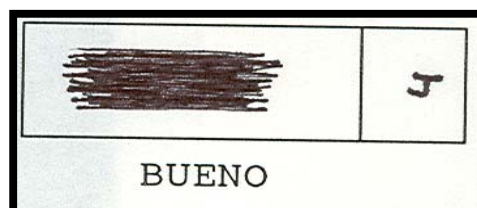
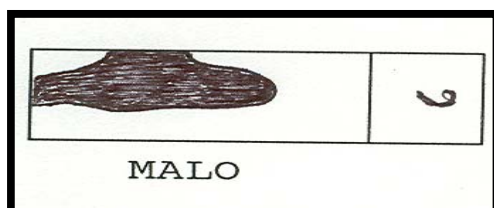


Fig. 4- Esperar 5 minutos y luego con agua corriente, lavar el colorante de carbol-fucsina.

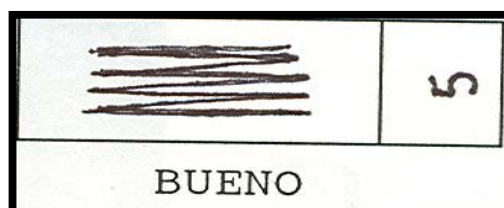
RECOMENDACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LOS FROTIS

La selección de la muestra y la realización del frotis son dos elementos muy importantes en el diagnóstico; es preferible invertir mas tiempo en seleccionar bien la parte más purulenta del esputo y hacer un buen frotis, bien distribuido, en el cual se puede realizar una lectura rápida y fácil, que tener un frotis malo en el cual la lectura microscópica es más difícil; indicamos algunos ejemplos:

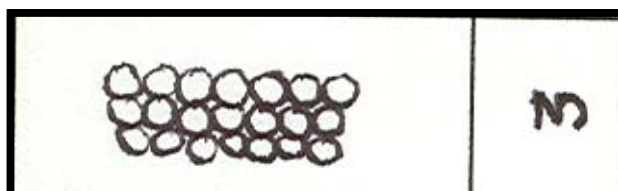
1. Evitar que la muestra llegue a los bordes de la lámina:



2. No hacer el extendido circular, pues al realizar la lectura microscópica, se encuentra en forma alterna campos buenos y campos en blanco. Hacer el extendido rectangular, esto facilita la lectura microscópica en una sola dirección, lo que agiliza el trabajo.



3. Cuando la muestra es solamente saliva, se deben depositar varias gotas extraída con el mismo aplicador o con una pipeta pasteur, si se dispone de ella; depositarlas sobre la lámina portaobjeto, dejar secar y no extenderla. Si al secarse, el frotis es aun ralo, agregarle una gota más en igual forma y dejar secar de nuevo.



Se considera que un frotis esta bien preparado, cuando es más o menos grueso, y la muestra está uniformemente distribuido sin muchas acúmulos

Es conveniente usar láminas nuevas, las cuales son suministradas cada tres meses por el nivel superior correspondiente.

PROCEDIMIENTO DE COLORACIÓN

Para realizar la coloración, es recomendable hacerlo siempre en la misma secuencia y colocar los materiales en el mismo orden para adquirir el hábito, es conveniente, antes de empezar el procedimiento de coloración, tener los materiales en el orden que a continuación se da en la siguiente figura:

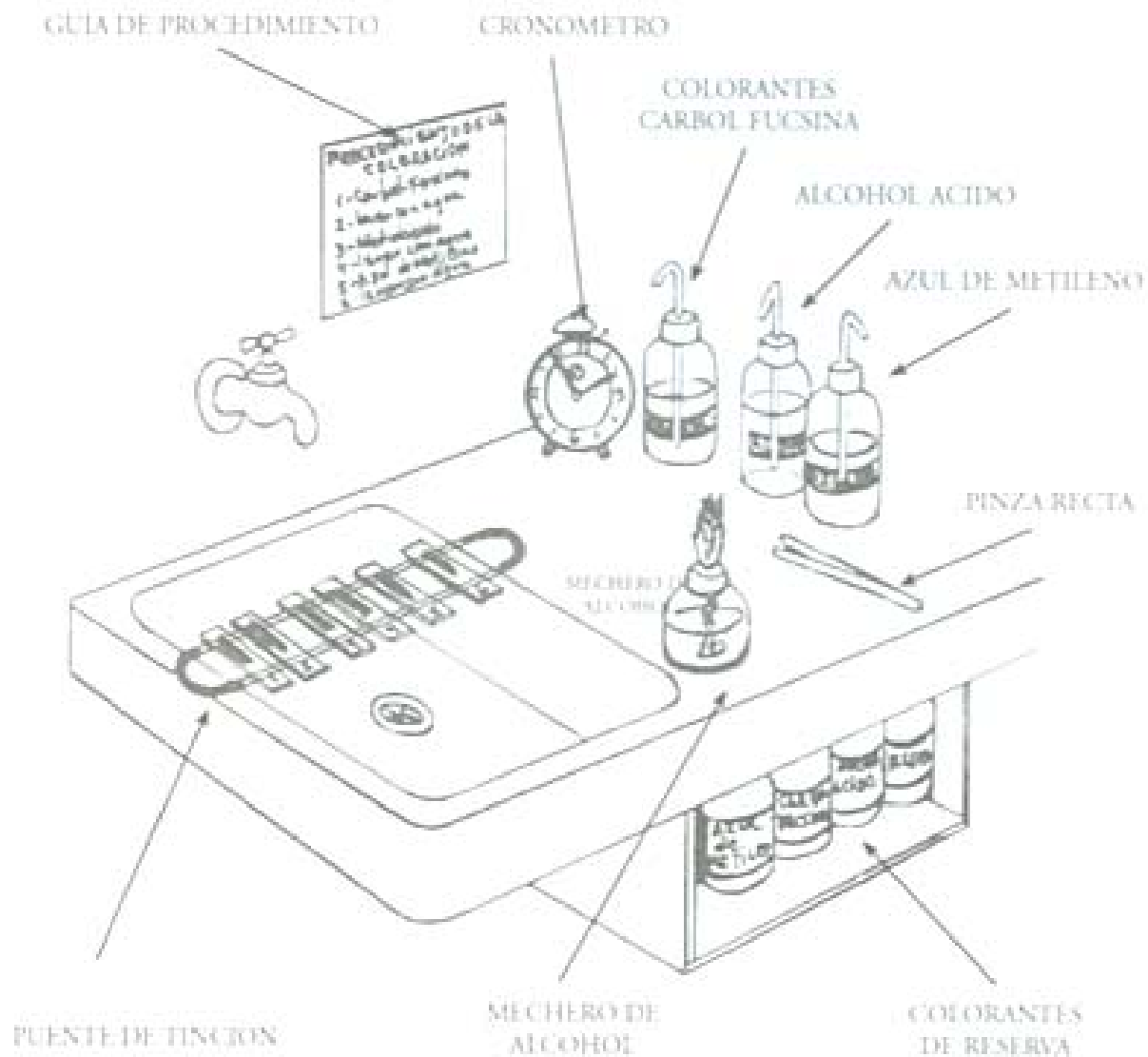


Fig. 3 Ordenamiento de los materiales para la coloración de los frotis

Método de Zielhl-Neelsen

a) Coloración del frotis:

1. Las láminas fijadas, se alinean separadas, en el puente de tinción, con la muestra hacia arriba y el número hacia el operador
2. El orden de numeración de las láminas, se hace de izquierda a derecha
3. Cubrir toda la superficie del frotis con carbol-fucsina, evitando el exceso, para que no se derrame por los bordes
4. Calentar lentamente las láminas por debajo hasta que se desprendan vapores, SIN QUE EL COLORANTE HIERVA O SE SEQUE. Para ello, utilizar la llamada de un mechero con una pinza o alambre grueso y un pedazo de algodón humedecido con alcohol. Si el colorante se escurre, agregarle más y volver a calentar.

Cuando lentamente se observe el desprendimiento de vapores, retirar la llama y dejar actuar el colorante caliente durante 5 minutos (Fig. 3).

5. Enjuagar cada lamina separadamente bajo un chorro suave de agua corriente, hasta que el exceso de colorante sea arrastrado por el agua (Fig. 4)
6. Colocar de nuevo cada lamina sobre el puente de tinción

b) Decoloración:

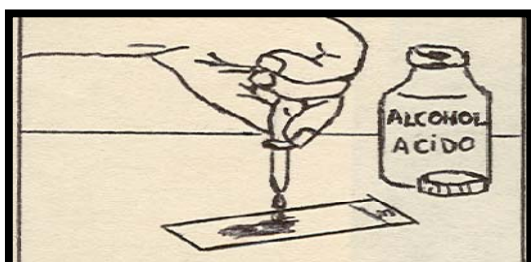
1. Cubrir cada frotis con alcohol-ácido. Se toma la lámina por el extremo numerado, se le da varias veces un movimiento de vaivén, luego se elimina el decolorante.

Se repite el proceso, al comienzo el decolorante sale de color rojo, pero cada vez se va haciendo más pálido, hasta que el color rojo haya desaparecido casi por completo. Se considera que la preparación esta bien decolorada, cuando los lugares mas gruesos, presentan un ligero tinte rosado. Esto se hace en aproximadamente 1 minuto (Fig. 5)

2. Lavar nuevamente con abundante agua (Fig.6)
3. Colocar de nuevo las láminas en el puente de tinción, en el mismo orden y asegurarse de que no se hayan borrado los números de las láminas.

c) Tinción de contraste:

1. Cubrir el frotis con azul de metileno, durante 1 minuto (Fig. 7)
2. Enjuagar con agua (Fig. 8).
3. Colocar las láminas en el mismo orden, en un portaláminas con la numeración hacia arriba y dejar secar al aire.



DE COLORACION

Fig. 5 Cubrir completamente el extendido con alcohol-ácido, se le da varias veces un movimiento de vaivén, luego se elimina el decolorante, se repite si es necesario; Esperar hasta que la coloración del extendido alcance un rosado pálido esto puede llevar 1 minuto.



Fig. 6 Lavar suavemente con agua corriente para eliminar el alcohol-ácido.



Fig. 7 Cubrir el extendido con azul de metileno y esperar 1 minuto



Fig. 8 Lavar suavemente con agua corriente para eliminar el colorante, colocar en el mismo orden en un portaláminas y dejar secar al aire.

Se considera que un frotis está bien coloreado, cuando se observa uniformemente azul, algunos acúmulos un poco rosados y al colocarlo sobre un periódico, se pueden observar las letras a través de él. Al observarlo al microscopio, se nota un fondo azul claro, sin cristales de fucsina.

Dibujos tomados de HEALTH TECHNOLOGY. DIRECTIONS. PATH Vol. 6 N° 1

EXAMEN AL MICROSCOPIO

Antes de empezar a trabajar, asegurarse de que la mesa de trabajo esta ordenada y limpia y que tiene a mano todo lo necesario, como se indica en la siguiente figura:

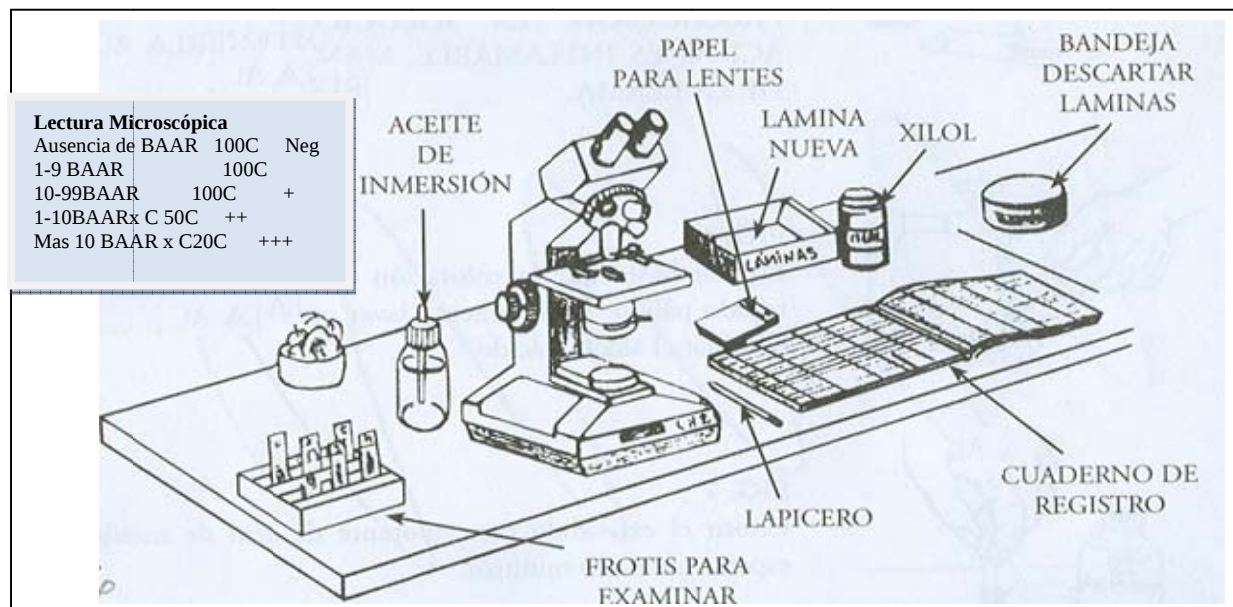


Fig. 4 Ordenamiento de la mesa de trabajo, para la lectura microscópica de las láminas.

Para el examen de los frotis teñidos, lo mas conveniente es un microscopio binocular con objetivo de inmersión (100x oil) y un ocular de aumento moderado, es bueno el uso de oculares 8X o 10X, esto da un aumento total de 800X o 1000X.

Colocar la lámina en la platina del microscopio. Con el lente de menor aumento, seleccionar un sitio adecuado en el lado derecho del frotis, para iniciar la lectura (en el microscopio, lo ve al lado izquierdo).

En el sitio escogido, poner una gota de aceite de inmersión; para evitar una posible contaminación del aceite, no tocar el frotis con la punta del gotero, sino dejar que la gota caiga libremente sobre el frotis.

Con el revólver, seleccionar el lente de inmersión, bajarlo con el tornillo macrométrico y mirando directamente al lente (no a través de los oculares) hasta que aquel toque la gota de aceite y pegue suavemente en la superficie de la lámina.

Mirando a través del ocular, separar el lente de inmersión lentamente, siempre con el tornillo macrométrico, al observar la imagen, haga el ajuste fino con el tornillo micrométrico, hasta ver muy claramente. Durante todo el proceso de lectura, el enfoque correcto se asegura con el tornillo micrométrico. Mientras enfoca, no correr la lámina portaobjetos, ya que se puede rayar la superficie del lente objetivo.

Técnica de la lectura

Examinar un mínimo de 100 campos microscópicos. Un microscopista entrenado puede hacer esto en 5 minutos. La lectura debe hacerse de manera sistemática y estandarizada. Empezar en el extremo derecho del frotis (se observa extremo izquierdo en el microscopio), ajustando levemente con el micrométrico, cada vez que enfoque un nuevo campo.

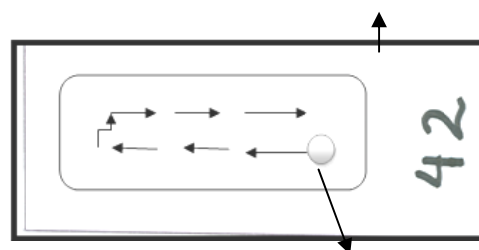


Fig. 5 Secuencia de lectura microscópica del frotis coloreado.1

Después de haber examinado un campo, mover la lámina en forma longitudinal, hacia la izquierda en el microscopio, para examinar el siguiente campo. De ésta manera, examinar todos los campos, desde el principio hasta el fin a lo largo de la longitud central del frotis. En un frotis bien preparado, a lo largo de un frotis, puede haber más de 100 campos microscópicos útiles.

Se considera campo microscópico útil, aquel en el cual se observan elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas) en suficiente cantidad. Los campos en los que no aparezcan dichos elementos, no deben de contabilizarse en la lectura.

Cuando no se encuentran BAAR, en 100 campos, se debe hacer una nueva búsqueda más cuidadosa en otros 100 campos. Mover la lámina unos milímetros hacia atrás y leer una segunda longitud del mismo, esta vez en secuencia inversa (de derecha a izquierda)

Los BAAR se observan como bastoncitos delgados y rojos, ligeramente curvos, teñidos irregularmente, mas o menos granuloso, aislados, en par o en grupos, destacándose claramente contra el fondo azul. Contar el número de BAAR observados y el número de campos microscópicos examinados y anotar la codificación correspondiente en el cuaderno de registro de laboratorio.

Al finalizar el examen, bajar la platina y retirar la lámina, verificar la identificación con el número de la lámina.

Antes de examinar una nueva lámina, limpiar el lente de inmersión con un papel para limpiar lentes.

REPORTE DEL EXAMEN

El número de bacilos encontrados es muy importante como elemento de información, dada su relación con el grado de contagiosidad con el paciente, así como la severidad de la enfermedad, por esta razón, el examen debe de ser no solo cualitativo sino cuantitativo.

A continuación el método de registro que se debe utilizar, el cuales suficientemente cuantitativo, como para tener utilidad para el médico y evaluar la evolución del paciente.

Número de bacilos encontrados	Campos de inmersión observados	Código del reporte
Ausencia de BAAR	100 campos	No se observo BAAR
1 a 9 BAAR	100 campos	Anotar la cifra de bacilos
10 a 99 BAAR	100 campos	+
1 a 10 BAAR por campo	50 campos	++
Mas de 10 BAAR por campo	20 campos	+++

En la columna (10) del cuaderno de registro de Laboratorio, se anota el código del resultado de los tres seriados, así como también en la hoja de resultados. Los resultados positivos se anotan en rojo, para facilitar su visualización.

En la columna (11), en la primera baciloscopía del día, el técnico que realiza las lecturas microscópicas, pone sus iniciales o su nombre.

En la columna (12), (Observaciones) anotar si la muestra es purulenta, saliva, mucosa; o si es de orina, LCR, lavado broncoalveolar, etc.

Una vez finalizada la lectura de todas las baciloscopías, eliminarles el aceite, y anotar los resultados en el cuaderno de registro. Estos resultados deben ser pasados al formulario de "Pedidos de examen bacteriológico) (BAAR), en su reverso (Resultados)

SI EL RESULTADO ES POSITIVO, DEBE ENVIARSE DE INMEDIATO, AL COMPONENTE DE CONTROL DE LA TB. DEL CENTRO DE SALUD.

DESINFECCIÓN Y ELIMINACIÓN DEL MATERIAL CONTAMINADO

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

Para desinfectar los frascos recolectores de esputo, se pueden meter en la autoclave, o echarles fenol al 4% a cada frasco, dejándolos hasta el siguiente día, o hervirlos en agua durante 5 minutos y luego descartarlos, incinerarlos para evitar su reutilización.

Las láminas positivas y negativas para el control de calidad, deben guardarse sin aceite de inmersión, en una caja especial y enviar lo normado al nivel establecido, para su revisión (una lámina positiva por paciente). Las que se van a descartar, se deben depositar en un pequeño recipiente para incinerarlas, y pasar por la autoclave o enterrarlas para evitar su reutilización.

Las láminas negativas que se vayan a reutilizar, deben colocarse separadas, en otro pequeño recipiente preferiblemente con tapa, conteniendo fenol al 4%, o una solución de cloro y dejarla durante 24 horas o meterlas en autoclave o hervirlas durante 10 minutos, y luego lavarlas. Estas láminas se pueden reutilizar para otros exámenes de laboratorio. Para las baciloscopías, es preferible utilizar solamente láminas nuevas.

Envío de láminas para el control de calidad

Para mantener una buena confiabilidad en el trabajo y saber que lo que se está haciendo es adecuado, se necesita que una parte del trabajo realizado, sea revisado a otro nivel, lo que ayuda a mejorar la calidad de diagnóstico de laboratorio, para eso, se debe realizar una nueva lectura de las baciloscopías, así que:

1. Todos los laboratorios de los servicios de salud que realizar baciloscopías, deben enviar al nivel establecido, el 15% de los baciloscopías negativas y el 50% de las positivas, esto se dará preferiblemente en la primera semana de cada mes.
 - a) Para seleccionar el 15% de las láminas negativas, se escoge una por cada seis láminas negativas, contando en forma sucesiva.
 - b) Para seleccionar el 50% de las láminas positivas, se escoge una de cada paciente cuyo resultado haya sido positivo

Estas láminas se irán almacenando, aparte, empacadas con papel, individualmente, anotando únicamente su número, el resto de láminas se descartan.

2. En el formulario “Reporte de láminas enviadas para revisión”, se anotará:

- a) Los datos completos del encabezado
- b) El nombre del paciente
- c) El resultado de la lectura
- d) El número de identificación de cada lámina

Se debe enviar original y dos copias al nivel regional correspondiente.

Normalmente, hay un margen de error en el diagnóstico, siendo mas frecuentes los falsos negativos (baciloscopía reportada como negativa, pero que al revisarla, resulta positiva), este error se puede dar cuando el número de bacilos en la muestra es muy bajo o el frotis está mal distribuido.

Errores fuera de límite aceptable:

- 1- Falsos positivos
- 2- Falsos negativos en casos de frotis positivos (++) y (+++)
- 3- Total de errores de diagnóstico mayor de 4%.

Informes estadísticos de baciloscopías

En la primera semana de cada mes, el laboratorista elaborará un informe mensual, en el formato "INFORME MENSUAL DE BACILOSCOPIAS", original y dos copias, de baciloscopías realizadas durante el mes anterior, anotando el numero total de baciloscopías efectuadas a los casos sospechosos (Pacientes nuevos), numero de laminas positivas y el porcentaje de positivos en relación al total de baciloscopías hechas:

$$\frac{\text{Baciloscopías positivas} \times 100}{\text{Baciloscopías realizadas}} = \% \text{ de positividad de las baciloscopías}$$

Igualmente se anotará el número total de baciloscopías realizadas a pacientes de control (en seguimiento), el número de positivos y el porcentaje de positividad. Luego se suman el total de baciloscopías realizadas, positivas y el porcentaje total de positividad.

Por ultimo, se informa el número total de sintomáticos respiratorios (Pacientes nuevos) estudiados, el numero de positivos y el porcentaje de positividad. Este informe se enviara cada mes a la dirección de estadísticas del SILAIS, quedando en el centro una copia para el responsable de estadísticas del centro y otra copia para archivar en el laboratorio.

$$\frac{\text{Sintomáticos Respiratorios+14 Positivos} \times 100}{\text{Sintomáticos Respiratorios+14 Examinados}} = \% \text{ de SR+14 Positivos}$$

Se debe evaluar también el número de SR+14 examinados en relación con la consulta externa a mayores de 15 años. La positividad de los SR+14 es un indicador importante de la búsqueda de casos. En el laboratorio, las copias de los informes mensuales, se deben archivar y guardar en forma ordenada, en un sitio que esté a mano, a fin de suministrar la información a los supervisores o para realizar las evaluaciones de las actividades de laboratorio.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

A) Carbol-Fucsina de Ziehl:

Para preparar 100 ml de tinción, emplear la fórmula siguiente. Se pueden preparar volúmenes mayores para almacenarlos, si así se desea:

- 1) Solución alcohólica saturada de fucsina:
 - Fucsina básica.....3g.
 - Alcohol etílico de 95° (etanol).....100 ml

- 2) Solución de trabajo:

Carbol – fucsina al 0.3%

- Fenol en cristales.....5 g
- Agua destilada, completar hasta.....90ml
- Solución saturada de fucsina.....10 ml

Calentar suavemente los cristales de fenol en un frasco hasta licuar y agregarle el agua y luego la solución de fucsina.

B) Reactivo decolorante: Alcohol-ácido al 3%

- Alcohol etílico de 95° 970 ml.
- Acido clorhídrico concentrado (37%)..... 30 ml

Precaución:

Agregar lentamente el ácido clorhídrico por las paredes del frasco, mientras se agita.

Se notará que el contenido se pone caliente

NUNCA VACIAR AL INVERSO

C) Solución de contraste: Azul de metileno al 0.3%

- Azul de metileno hidrosoluble.....0,3g
- Agua destilada.....100 ml.

ANEXO 1

TABLA DE CÁLCULO PARA ELABORAR EL PEDIDO DE MATERIALES

El cálculo de los materiales a necesitar, se realiza en base al trabajo realizado en el año o semestre anterior, mientras no se hagan cambios en las actividades y metas básicas del Componente de Tuberculosis. El pedido se efectúa cada 3 meses preferiblemente:

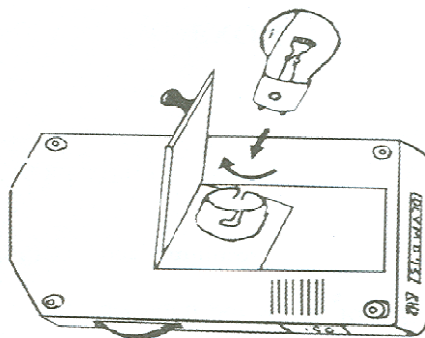
Frascos recolectores	1 por baciloscopía
Láminas portaobjetos	1 por baciloscopía
Aplicador de madera	1 por baciloscopía
Papel para limpiar lentes	1 por cada 10 baciloscopías
Solución de fenol al 4%	1 litro por mes
Aceite de inmersión	1 gota= 0.05 ml por baciloscopía
Alcohol para mechero	2 ml por baciloscopía
Xilol	100 ml cada 3 meses
Formato de Informe Mensual	3 por mes
Formato de Control de Calidad	3 por mes
Lápiz graso	1 cada 3 meses

ANEXO 2

PROCEDIMIENTO PARA EL CAMBIO DE BUJÍA DEL MICROSCOPIO

El microscopio que actualmente se está usando en la mayoría de los laboratorios para las baciloscopías es marca "Olympus" modelo CHT-213E el cual posee una lámpara de tungsteno, de 120V. y 30W y con objetivo de inmersión de 100x y de campo plano acromático.

Para el cambio de bujía (lámpara), proceda de la siguiente manera:



1. Desconectar el microscopio de la corriente eléctrica
2. Sacar los dos oculares del microscopio y quitar el filtro
3. Colocar el microscopio sobre uno de sus lados
4. Abrir la tapa de lámpara halando la perilla hacia fuera
5. Para sacar la bujía descompuesta, empujar hacia adentro y rotar en sentido contrario a las manecillas del reloj
6. Agarre la nueva bujía, colóquela con un pañuelo o con una bolsa de plástico, para evitar mancharla de grasa
7. Insertar la nueva bujía con el espejo hacia abajo del microscopio, presionando hacia adentro y rotar hacia el sentido de las manecillas del reloj, de tal forma que la parte plateada quede hacia abajo
8. Cerrar la tapa y presionar la perilla
9. Parar el microscopio, colocar los oculares y el filtro
10. Enchufar y encender

NOTA: NUNCA USAR BUJIAS MAYORES DE 30 WATTS

ANEXO 3

Coloración de Zielhl Neelsen

- 1- CARBOL FUCSINA: Flamear hasta que emita vapores y dejar por 5 minutos
- 2- LAVAR CON AGUA
- 3- ALCOHOL ACIDO : Descolorar por 30 seg. Repetir si es necesario
- 4- LAVAR CON AGUA
- 5- AZUL DE METILENO: por 1 minuto
- 6- LAVAR CON AGUA
- 7- DEJAR SECAR
- 8- OBSERVAR AL MICROSCOPIO

BIBLIOGRAFÍA

1. Collins, C.H. et al. Organization and Practice in Tuberculosis Bacteriology. Ed. Butterworth & Co. London, 1985
2. IUATLD. Management of Tuberculosis. A Guide for Low Income Countries. Fifth edition. Paris, France. 2000.
3. MINISTERIO DE SALUD. Manual de Normas y Procedimientos del Programa de Control de Tuberculosis. Managua, 2007.
4. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Normas y Guía Técnica. Parte I. Baciloscopia. 2008.
5. PATH, Health Technology Directions. Tuberculosis. Vol. 6, Nº 1. 1986
6. UICTER. Guía de la Tuberculosis para Países de Alta Prevalencia. 2ª. Ed. Francia. 1993.