

# **Manual de Técnicas de Laboratorio para el Exámen Baciloscópico**

---

---

# Directorio

## SECRETARÍA DE SALUD

### **Dr. Julio Frenk Mora**

Secretario de Salud

### **Dr. Enrique Ruelas Barajas**

Subsecretario de Innovación y Calidad

### **Dr. Roberto Tapia Conyer**

Subsecretario de Prevención y Promoción de la Salud

### **Lic. María Eugenia de León-May**

Subsecretaria de Administración y Finanzas

### **Dr. Oscar Velázquez Monroy**

Director General del Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades

### **Dr. Ignacio Villaseñor Ruíz**

Director General del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

Este manual fue impreso con la cooperación de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

La OPS fundada en 1902 con el fin de promover la cooperación entre los países del continente americano y avanzar hacia un desarrollo humano sostenible que conduzca al logro de la meta de salud para todos. La OPS es el organismo de cooperación técnica especializado en salud del sistema interamericano, actúa como la Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud y, como tal, forma parte del sistema de las Naciones Unidas.

La OPS colabora estrechamente con las instituciones de salud y de seguridad social de los 38 gobiernos miembros de la organización, así como con la comunidad internacional y otras agencias, para fortalecer la capacidad del sector salud y el desarrollo de sus programas prioritarios, mediante una acción intersectorial y un enfoque integral que contribuya a mejorar las condiciones de salud pública de los países de la región.

---

---

## **Manual de Técnicas de Laboratorio para el Examen Baciloscópico**

ISBN: 970-721-083-4

Primera Edición, 2003

D.R.© Secretaría de Salud

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

Carpio 470

Colonia Santo Tomás

Delegación Miguel Hidalgo

11340 México, D. F.

Se permite la reproducción total o parcial de éste documento siempre y cuando se cite la fuente



# **INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS**

**Dr. Ignacio Villaseñor Ruíz**

Director General

**Dr. Jorge Morales Pineda**

Director de Servicios y Apoyo Técnico

**Dr. Rogelio Pineda Mejía**

Director de Diagnóstico y Referencia

## **Autores**

Biol. Susana Balandrano Campos

QFB. Georgina Anzaldo Flores

Téc. Pedro Contreras Ramos

## **Comité Editorial**

Biól. Carlos A. Rosete Moreno

Ing. Patricia Gutiérrez Cogco

M. en C. Cuauhtémoc Corella González



# OBJETIVO DEL MANUAL

Con el propósito de elevar la calidad y eficiencia de los laboratorios de primer nivel de atención a la salud, se debe contar con técnicas y procedimientos estandarizados y sencillos, para ser aplicados con la suficiente sensibilidad y especificidad que garanticen resultados confiables.

Este manual está enfocado a lograr la estandarización y calidad del examen microscópico directo o baciloscopía, técnica fundamental para el diagnóstico de la tuberculosis mediante la identificación de *M. tuberculosis*. La estandarización simplifica las actividades de los laboratorios de la red, su organización, supervisión y evaluación, adquisición de equipo, material y reactivos; reducción de costos y permite obtener resultados comparables con los laboratorios de todo el país.





# Índice

Introducción .....	11
1. Examen Bacilosκόpico .....	13
Toma y Manejo de la Muestra .....	13
Conservación y Transporte de la Muestra .....	15
Examen Microscópico Directo, Baciloscopía .....	17
Lectura, Interpretación e Informe de Resultados .....	28
2. Bioseguridad .....	37
3. Red de Laboratorios .....	43
4. Supervisión de La Red de Laboratorios y Control de Calidad .....	47
5. Anexos .....	55
6. Bibliografía .....	71



# INTRODUCCIÓN

En la actualidad la tuberculosis es considerada una de las enfermedades reemergentes más importantes en el mundo como problema de salud pública, agravada por la epidemia de VIH y por el aumento de la farmacorresistencia. Según estimaciones disponibles, aproximadamente un tercio de la población mundial está infectada por el *Mycobacterium tuberculosis*. Cada año se producen mundialmente nueve millones de nuevos casos de tuberculosis y tres millones de defunciones por esa enfermedad.

En nuestro país, ocupa el primer lugar como causa de muerte por enfermedades infecciosas debidas a un sólo agente etiológico. La tasa de morbilidad ha disminuido en 23% en los últimos 5 años, de 18.73 en 1998 a 15.2 por 100,000 habitantes en el 2002 (15,432 casos). Sin embargo a pesar de los esfuerzos realizados la tasa de mortalidad se ha ido reduciendo muy lentamente, siendo para 2002 de 2.6 por 100,000 habitantes.

Para enfrentar este problema, el Programa Nacional de Micobacteriosis de la Secretaría de Salud está apoyado por servicios de bacteriología conformados en una red de 646 laboratorios con diferentes niveles de complejidad. El principal objetivo del Programa es detectar los casos infecciosos, es decir los tuberculosos pulmonares bacilíferos diagnosticándolos con certeza y oportunidad, además monitorear el progreso del tratamiento y confirmar su curación.

La tuberculosis es una enfermedad crónica, infecciosa y curable, causada por el *Mycobacterium tuberculosis* en el 95% de los casos y por *M. bovis* y *M. africanum* ocasionalmente. La tuberculosis pulmonar es la forma más común de la enfermedad, se presenta en más del 80% de los casos y es la principal forma infecciosa. La transmisión del bacilo se produce casi exclusivamente de persona a persona por vía aerógena. El *M. tuberculosis* es un bacilo aeróbico estricto en forma de bastón que mide de 2 a 6 mm de largo por 0.3 a 0.6 mm de ancho. Se reproduce en forma binaria en 18 a 24 horas, por lo que en cultivo crece lentamente (28 a 30 días). Su principal característica es el alto contenido de lípidos de su pared celular (que representa del 20 al 40% de su peso seco) y le confiere la cualidad de ser ácido-alcohol resistente.



# 1. Exámen Baciloscópico

## TOMA Y MANEJO DE LA MUESTRA

1. El envase para la muestra debe reunir las siguientes características (fig. 1):
  - a) Boca ancha de aproximadamente 6 cm de diámetro, que facilite la recolección y permita al laboratorista elegir la porción mucopurulenta de la muestra.
  - b) Tapa de rosca, para disminuir el riesgo de derramar la muestra durante el transporte y de producir aerosoles al abrirla en el laboratorio.
  - c) Etiquetado correctamente para que permita la identificación del envase.
  - d) Capacidad de 50 a 60 ml aproximadamente, para recolectar un volumen suficiente de muestra.
  - e) De pared lisa y semitransparente, para poder juzgar la calidad de la muestra sin abrir el envase.
  - f) Desechable, para facilitar su eliminación.

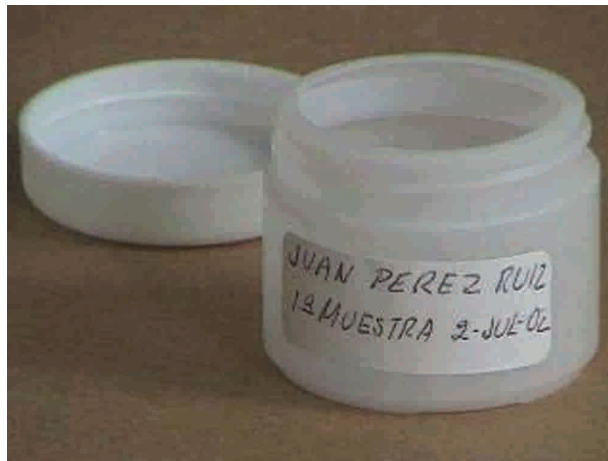


Figura 1. Tipo de envase recomendado para la recolección de muestras de esputo obtenidas por expectoración natural.

## 2. Características de la muestra.

Para que el laboratorio pueda obtener un resultado confiable y útil, es preciso ejecutar las técnicas en forma correcta y contar con una muestra biológica adecuada cuyas características son:

- a) Provenir del sitio de la lesión a investigar.
- b) Ser en cantidad suficiente (3-5 ml).
- c) Estar colocada en envase adecuado y limpio.
- d) Estar bien identificadas.

e) Haber sido conservada y transportada correctamente.

Por ser la muestra de mayor rendimiento se dará especial énfasis a la expectoración, teniendo en cuenta que ninguna otra muestra supera sus resultados bacteriológicos y que todas las restantes deben ser procesadas también por cultivo.

### 3. Tipo de muestra.

#### a) Expectoración natural.

La muestra más adecuada para la baciloscopía es esputo obtenido por expectoración natural. 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 de faringe o por aspiración de secreciones nasales o saliva. Cualquier otra muestra debe ser procesada por cultivo.

#### b) Expectoración inducida.

Cuando el paciente no logra expectorar y es necesario un examen de esputo, se puede recurrir a la expectoración inducida, la cual debe hacerse bajo la instrucción y supervisión médica, y no en el laboratorio.

#### c) Otras muestras.

Todas las muestras de origen extrapulmonar (líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, biopsias, etc.) deben procesarse por cultivo pues la escasa cantidad de bacilos, así como la posible presencia de micobacterias saprófitas hacen que la baciloscopía no sea concluyente. Por ello, el procedimiento de obtención y procesamiento de otras muestras no se incluyen en este manual. En el caso de la muestra de orina, los frotis de los sedimentos obtenidos por centrifugación dan resultados muy poco confiables por lo que se recomienda no realizarlos. La orina puede contener micobacterias no tuberculosas, por lo que hay que ser muy cautos si se detectan bacilos acidorresistentes en ella. Para un diagnóstico confirmatorio, se debe realizar el cultivo.

### 4. Número de muestras.

Debido a que la eliminación de bacilos no es continua, es imprescindible analizar tres muestras de cada tosedor, obtenidas de acuerdo a las siguientes indicaciones.

#### A. Para diagnóstico se requieren tres muestras.

a) La primera cuando se identifique al tosedor.

b) La segunda al despertar a la mañana siguiente a la toma de la primera muestra.

c) La tercera al entregar la segunda en la unidad de salud.

B. En enfermos en control de tratamiento se debe examinar una muestra mensual durante el tiempo de duración del tratamiento. En estos pacientes es difícil obtener una buena muestra a partir del tercer mes: probablemente las muestras sean de saliva. Si este es el caso, es importante no desecharlas, procesarlas e incluir en el resultado las condiciones de la muestra (saliva, etc.). Si la muestra que corresponde al final del tratamiento es negativa, ésta confirma la curación del paciente.

### 5. Toma de muestra.

El procedimiento de toma de muestra es el momento de mayor riesgo de infección para el trabajador de laboratorio: cuando el paciente sospechoso de tener tuberculosis tose. Se

recomienda que la recolección de la muestra se haga en un sitio alejado de las demás personas, en un lugar privado con buena ventilación o preferentemente al aire libre. El personal encargado de tomar la muestra puede protegerse utilizando una mascarilla adecuada (ver sección de bioseguridad: precauciones en el trabajo). Para la toma de la muestra se procede de la siguiente manera:

A. Colocar en la pared del envase una etiqueta con los siguientes datos:

- a) El nombre del paciente.
- b) El nombre de la unidad de salud donde se recolectó la muestra.
- c) La fecha de recolección.
- d) Indicar si la muestra es para diagnóstico o para control de tratamiento.
- e) El número de muestra.

B. Indicar al paciente que se enjuague la boca con agua para eliminar residuos de comida.

C. Instruir al paciente con toda claridad para que produzca esputo bronquial de las «profundidades del pecho»: respirando profundamente, reteniendo el aire para luego lanzarlo violentamente (fig. 2a y 2b).

D. Indicarle que debe repetir esta operación tres veces, recogiendo los esputos obtenidos en el frasco, cuidando que no se derrame en sus manos o en las paredes del recipiente. La explicación debe ser sencilla, utilizando una terminología simple y clara que asegure que el paciente haya entendido el tipo de muestra que debe proporcionar.

E. Una vez obtenida la expectoración asegúrese que sea mucopurulenta. Si la muestra es principalmente saliva o secreción nasal, no desecharla, procesarla, pero solicitar una muestra de mejor calidad.

F. El volumen de la muestra debe ser de 3 a 5 ml aproximadamente.

G. Entregar al paciente un frasco o recipiente identificado para que recoja la segunda muestra, que será tomada en su casa a la mañana siguiente, al despertar y en ayunas. Insistir en la importancia de su entrega tan pronto le sea posible. Al entregar la segunda muestra en el laboratorio, se tomará la tercera.

## **CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA**

### **1. Tiempo de entrega.**

Mientras más rápido llegue la muestra al laboratorio, mayor será la posibilidad de encontrar micobacterias. Es conveniente que la muestra se procese para baciloscopía o para cultivo el mismo día de la recolección. Si esto no es posible, conservarla siempre en refrigeración (4°C no congelar) o en un lugar fresco, protegido de la luz y no por más de cinco días. La exposición de la muestra a la temperatura ambiente favorece la multiplicación de otros gérmenes habituales de la boca que degradan mucopolisacáridos y proteínas, que licúan la muestra y favorecen la muerte y degradación del bacilo. Estos eventos reducen la probabilidad de contar con una porción útil de muestra que permita la identificación del bacilo.

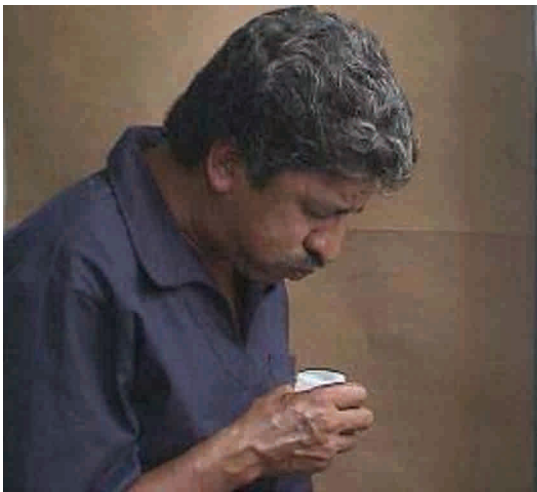


Figura 2a. Respiración profunda, al toser el paciente proporciona la muestra.



Figura 2b. Recolección de esputo bronquial de las profundidades del árbol respiratorio que deposita en el frasco.

## 2. Transporte.

Es conveniente disponer de cajas de madera o metálicas con divisiones interiores para el envío de las muestras. Además, asegurar la tapa de cada frasco, colocarlo dentro de una bolsa de plástico y cerrarla con una liga. Enviar las muestras en cajas de cartón grueso o de unicel y si es posible con refrigerante. Durante el transporte es indispensable evitar:

- a) La exposición al calor excesivo.
- b) La exposición a la luz solar directa.
- c) El derrame del contenido del envase.

Cada muestra debe ir acompañada de la forma correspondiente: "Solicitud e Informe del Resultado del Exámen Bacteriológico" o el "Formato para el envío de muestras" debidamente llenados si la muestra se envía al InDRE. Dichos formatos y las instrucciones de llenado correspondientes se incluyen en el capítulo 5 de este manual. Durante el transporte, estos documentos deben ir separados de los envases que contienen las muestras. Debe elegirse el medio de transporte que garantice mayor rapidez y confianza de entrega.

## 3. Procedimiento de recepción.

El laboratorio receptor de las muestras debe valorarlas y proceder de acuerdo a lo siguiente:

- a) Comprobar que las muestras estén bien rotuladas (la etiqueta con los datos del paciente deberá estar colocada en el cuerpo del envase y no en la tapa) y que corresponda a lo asentado en su documentación.
- b) Limpiar el envase con fenol al 5% si existe un pequeño derrame del contenido. Si el derrame es masivo desechar la muestra por incineración o esterilización en autoclave.
- c) Evaluar la calidad y cantidad de la muestra, capturar dicha información en la libreta de laboratorio y en la sección apropiada de la solicitud de baciloscopía.
- d) Notificar a la unidad de salud que envía las muestras si hubo deficiencias en su identificación, calidad, cantidad o forma de envío. Si este es el caso, solicitar una nueva muestra.



#### 4. Procedimiento de registro.

El registro interno del laboratorio tiene por objeto dejar constancia de la recepción y procesamiento de la muestra, así como del resultado de la baciloscopía y la entrega del mismo al médico tratante. Además permite conocer las actividades de localización de casos en las unidades de salud en relación con el programa de control de la tuberculosis. Es necesario que el laboratorio tenga una libreta para registrar la recepción de muestras, los datos importantes del paciente y los resultados obtenidos. Con el fin de estandarizar estas actividades, los datos que se registren deben ser los mismos en todos los laboratorios, de acuerdo al rayado de la libreta. (se incluye en el anexo 5 de este manual).

### EXÁMEN MICROSCÓPICO DIRECTO BACILOSCOPIA

#### 1. Fundamento.

El exámen microscópico directo o baciloscopía es la técnica fundamental en toda investigación bacteriológica en tuberculosis, tanto para el diagnóstico como para el control del tratamiento. El procedimiento se basa en la capacidad de las micobacterias para incorporar y retener ciertos colorantes ante la acción de ácido y alcohol, propiedad conocida como ácido-alcohol-resistencia. Los elementos que se requieren para efectuar la técnica son comunes, de bajo costo y habitualmente están disponibles aún en laboratorios de nivel básico.

El uso de la baciloscopía en el diagnóstico de tuberculosis se apoya en los estudios de David. Su uso en el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar permite identificar con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 98% a los enfermos bacilíferos ya que expectoran una cantidad suficientemente grande de bacilos (se considera que una caverna de 1 cm<sup>2</sup> tiene una población bacilar de 10<sup>8</sup>).

SENSIBILIDAD DE LA BACILOSCOPIA

No. de bacilos observados	Calculo de la concentración de bacilos por mL de muestra	Probabilidad de un resultado positivo
0 en 100 o más campos	Menos de 1,000	Menos de 10%
1-2 en 300 campos	5,000-10,000	50 %
1-9 en 100 campos	unos 30,000	80 %
1-9 en 10 campos	unos 50,000	90 %
1-9 por campo	unos 100,000	96.2 %
10 o más por campo	unos 500,000	99.95 %

<sup>a</sup> Tomada de David, HL

#### 2. Área de trabajo.

El área de trabajo para baciloscopías requiere de una mesa de por lo menos 1 X 0.50 m, recubierta de material (de preferencia acero inoxidable) que pueda desinfectarse fácilmente con soluciones germicidas como fenol al 5% (fig. 3a). Próximo a esta área debe existir una tarja dedicada exclusivamente a la coloración de los extendidos (fig. 3b). Otra mesa de las mismas dimensiones para realizar la observación microscópica y el registro de resultados.



Figura 3a. Área de trabajo para la preparación de extendidos o frotis.



Figura 3b. Área de trabajo para su tinción (Tinción de Ziehl-Neelsen).

### 3. Equipo y material

- a) Microscopio binocular con oculares 10x, 40x y lente objetivo de inmersión 100x en excelentes condiciones de funcionamiento.
- b) Tarja para tinciones.
- c) Mechero de gas o de alcohol.
- d) Autoclave u olla express.
- e) Cristalería de laboratorio para la preparación de soluciones colorantes (matraces, probetas pipetas, etc.).
- f) Pizetas.
- g) Embudos.
- h) Lápiz de punta de diamante o de tungsteno.
- i) Frascos para soluciones colorantes y reactivos preparados.
- j) Gasa o papel para cubrir el área de trabajo.
- k) Envases para muestras.
- l) Aplicadores de madera.
- m) Portaobjetos.
- n) Varillas de vidrio para soporte de la tinción (puente).
- o) Hisopos de algodón.
- p) Frasco con fenol al 5% para desechar los aplicadores usados.
- q) Recipientes para eliminación de material contaminado.
- r) Gradillas para láminas.
- s) Aceite de inmersión.
- t) Papel seda.
- u) Papel filtro.

#### 4. Reactivos y colorantes.

Las sustancias para la preparación de los siguientes reactivos y colorantes deben ser de grado reactivo.

##### a) Carbol-Fucsina.

Para 1000 ml:

Fucsina básica.....3 g  
Alcohol de 95°.....100 ml  
Fenol acuoso\*  
(Agua destilada cbp 1000 ml).

Disolver por agitación en un matraz de aforo, agregando lentamente el alcohol. Enseguida agregar la solución de fenol acuoso\*. Agitar y agregar agua destilada hasta completar 1000 ml, dejar reposar 24 horas y filtrar. Volver a filtrar una vez por semana, la cantidad que se va a utilizar.

\*Fenol acuoso: fundir 45 g de fenol en cristales mas 10 ml de agua destilada, calentando en baño María hasta que se disuelva completamente y luego enfriar. Se agrega el volumen resultante total para la preparación de la Carbol-Fucsina.

##### b) Solución decolorante: (alcohol ácido).

Para 1000 ml:

Ácido clorhídrico.....30 ml  
Alcohol de 95°.....970 ml

Dejar escurrir lentamente el ácido clorhídrico por las paredes del matraz que contiene el alcohol. Agitar suavemente.

##### c) Azul de metileno.

Para 1000 ml:

Azul de metileno.....1 g  
Agua destilada cbp 1000 ml  
Disolver por agitación y filtrar.

##### d) Solución desinfectante (Fenol al 5%).

Para 1000 ml:

Fenol en cristales.....50 g  
Agua destilada cbp 1000 ml  
Disolver por agitación.

#### 5. Preparación del extendido.

- a) Preparar la lista de trabajo con los nombres de los enfermos a quienes corresponden las muestras que se van a procesar.
- b) Cubrir el área de la mesa donde se van a preparar los frotis (área contaminada) con gasa o papel absorbente impregnado con fenol al 5% (fig. 3a).
- c) Colocar las muestras a procesar sobre la mesa de trabajo en el área contaminada, en línea horizontal, en el mismo orden que tienen en la lista.
- d) Numerar en el cuerpo del envase cada muestra con el número de identificación correspondiente. Este número debe ser el mismo para cada muestra en la lista de trabajo, en la libreta de laboratorio y en el portaobjetos.

- e) Rotular el portaobjetos en la parte del extremo izquierdo con el número de identificación de la muestra correspondiente (figuras 4 y 5) y el nombre del paciente o sus iniciales.

Es indispensable que el rotulado se haga con un lápiz de punta de diamante o de tungsteno. Se debe tener cuidado de no dejar impresas las huellas dactilares sobre la laminilla, porque puede interferir con la tinción y dificultar la lectura en el microscopio. Para este examen se deben usar sólo portaobjetos nuevos, los rayados o viejos pueden producir como resultado falsos positivos.



Figura 4. Rotulación de portaobjetos con el número único de la muestra y el nombre del paciente, de acuerdo al orden progresivo de la libreta de laboratorio.

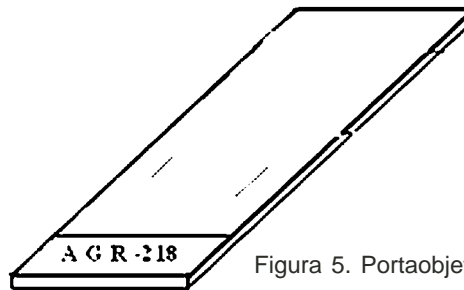


Figura 5. Portaobjetos rotulado.

- f) Para evitar confusiones, colocar frente al operador solo la muestra y el portaobjeto que se va a procesar. Destapar el envase de la muestra, colocándolo junto a la laminilla que ha sido marcada con el mismo número de identificación que la muestra (fig. 6).



Figura 6. El operador sostiene el cubreobjetos con el número correspondiente a la muestra que va a destapar.

- g) Para hacer el extendido usar un aplicador o palillo de madera al que previamente se le ha quebrado uno de los extremos de manera que se formen astillas, mismas que ayudarán a capturar el material caseoso o mucopurulento y trasladarlo al portaobjetos para elaborar el frotis. Abrir el envase atrás del mechero (fig. 7) y coleccionar con el palillo de madera la fracción útil, tomar por lo menos 2 ó 3 porciones purulentas para tener suficiente cantidad de muestra sobre el portaobjetos. La posibilidad de encontrar bacilos en las partículas sólidas o más densas del esputo es muy alta y los resultados del examen dependen en gran medida de la elección de estas porciones (fig. 8).



Figura 7. Colección de la fracción útil de la muestra de esputo con un palillo estéril de madera.

- h) Hacer un frotis de 2 cm de largo x 1 cm de ancho, haciendo movimientos circulares para obtener una película uniforme (figuras 8 y 9).

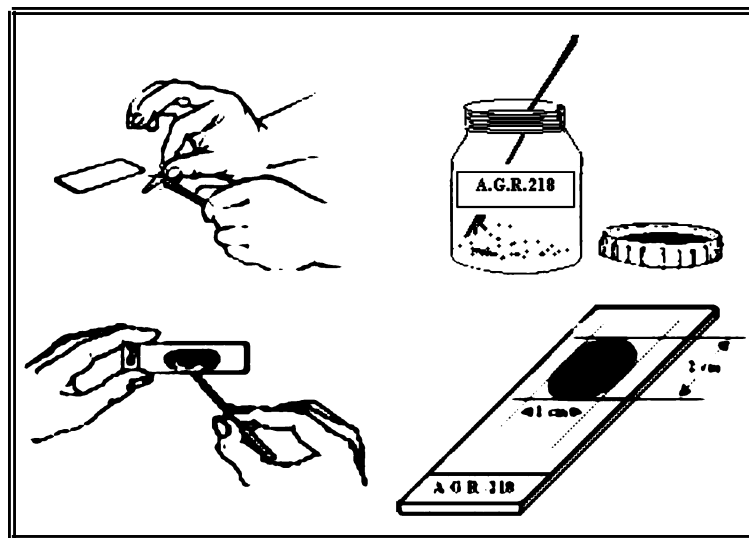


Figura 8. Aplicación del frotis.



Figura 9. Elaboración del frotis con movimientos circulares.

- i) Cuidar que el frotis no sea demasiado grueso ni demasiado delgado. En ambos casos se dificulta la tinción y la lectura microscópica. La fig. 10 (Laminillas 1-5) muestra una vista macroscópica de frotis inadecuados y un frotis adecuado (Laminilla 6).

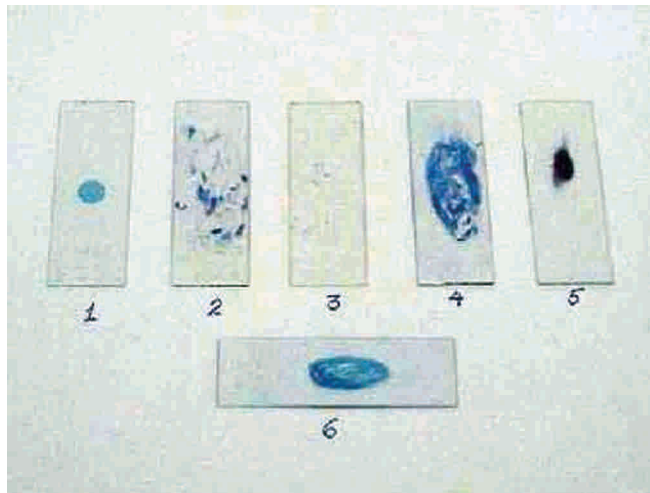


Figura 10. Muestras de frotis. (1)muy chico,( 2) no uniforme y demasiado grande, (3) muy delgado, (4) muy grande, (5) mal decolorado y muy grueso, (6) tamaño y tinción adecuadas.

- j) Desechar el aplicador de madera en un frasco que contenga fenol al 5%. Usar un aplicador diferente para cada muestra de esputo aunque sean del mismo paciente.
- k) Dejar secar el frotis a temperatura ambiente. Nunca se debe calentar la laminilla mientras está húmedo el frotis. Hacerlo produce aerosoles peligrosos para el operador.
- l) Solo después que el extendido se ha secado, fijar el frotis pasando la laminilla sobre la flama del mechero con suavidad 2 o 3 veces, evitando el sobrecalentamiento (fig. 11). Si la fijación del frotis es deficiente, puede desprenderse durante la tinción y resultar esto en una prueba falsa negativa. Calentar demasiado el frotis puede alterar la estructura de los bacilos e incluso causar que la laminilla se rompa.

- m) Al terminar la preparación de frotis, desinfectar el área de trabajo con fenol al 5% y esterilizar el recipiente con los aplicadores y el papel o gasa usados sobre la mesa.

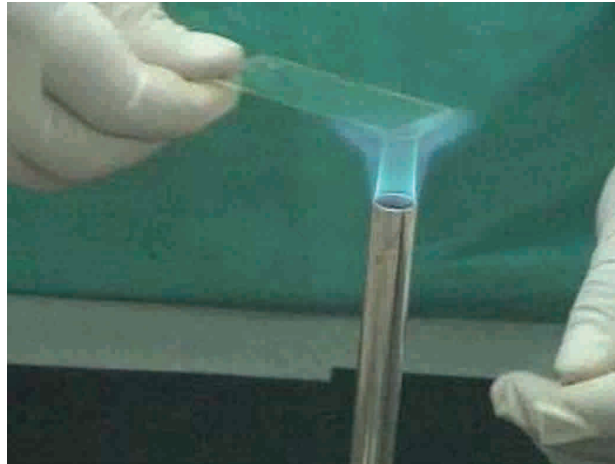


Figura 11. Fijación del frotis. La laminilla se pasa rápidamente (1-2 segundos) sobre la flama. 2-3 veces

- n) Conservar las muestras hasta terminada la observación microscópica, en caso de que sea necesario repetir el extendido, la tinción o la observación al microscopio. Solo cuando estos procedimientos se han completado satisfactoriamente, los contenedores con las muestras se esterilizan y desechan.
- o) Debido al procedimiento, cuidados y medidas de bioseguridad que se requieren para realizar el frotis o extendido, no es recomendable hacerlo fuera del laboratorio.
6. Tinción del extendido (Ziehl-Neelsen).
- Se recomienda teñir como máximo 12 frotis (extendidos) en cada oportunidad para lograr una coloración uniforme, para lo cual es necesario respetar los tiempos de tinción.
- A. Colocar los frotis, conservando el orden numérico sobre las varillas de vidrio dispuestas en la tarja, con el extendido hacia arriba y la numeración hacia el operador (fig. 12).



Figura 12. Disposición de frotis para tinción, sobre varillas de vidrio unidas en sus extremos con tubo de goma.



- a) Además deberán mantener una distancia mínima aproximada de 5 mm entre una y otra laminilla para evitar contaminación por arrastre de las soluciones y líquidos durante la tinción.
- b) Como control de calidad de la tinción, es necesario incluir diariamente un frotis de control positivo y otro negativo. Ambos deber ser revisados al terminar la tinción antes de la lectura de los frotis problema, para evaluar y tener presente las características de la tinción.
- B. Cubrir completamente cada portaobjetos con carbol-fucsina (fig. 13). Este colorante teñirá los bacilos de color rojo. La cantidad de carbol fucsina que empleará durante la tención debe ser filtrada antes de usarse (por lo menos una vez por semana). Si no se filtra, pequeñas partículas (sedimentos) del colorante quedarán sobre el frotis y pueden confundir al microscopista.

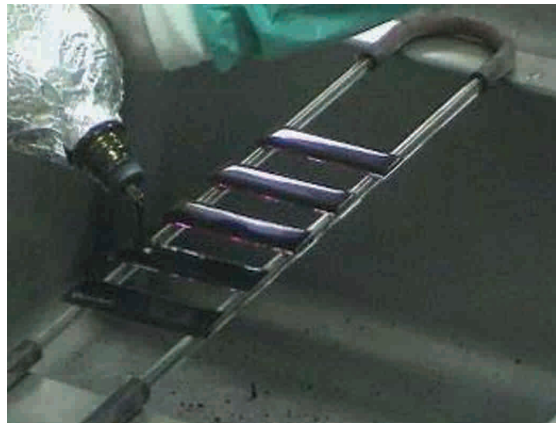


Figura 13. Tinción de laminillas con Carbol-fucsina.

- C. Calentar (usando un hisopo de algodón mediano impregnado con alcohol), las laminillas con la carbol fucsina hasta producir vapores visibles. **Evitar que el colorante hierva** o se seque sobre la laminilla porque formará pequeños cristales que pueden confundirse con bacilos y generar como resultado falsos positivos (fig. 14).



Figura 14. Calentamiento del frotis cubierto con Carbol-fucsina utilizando una varilla metálica cubierta con algodón e impregnada con alcohol étílico.



- a) Dejar de calentar y repetir la operación dos veces más. Esta operación debe durar aproximadamente 5 minutos. La pared del bacilo es gruesa y serosa por lo que es necesario dar a la carbol fucsina tiempo suficiente para que penetre y pueda teñir el bacilo.
- D. Enjuagar suavemente con agua destilada hasta quitar el colorante de la laminilla (fig. 15). Si la presión del chorro de agua es excesiva, el frotis puede ser removido del portaobjetos.



Figura 15. Lavado de las laminillas. El agua se vierte suavemente sobre la laminilla con el vaso de precipitado.

- E. Inclinar la laminilla para eliminar el exceso de agua (fig. 16). Si el exceso de agua no es eliminado del portaobjetos la solución del paso siguiente se diluirá, reduciendo la efectividad del reactivo.



Figura 16. Eliminación del exceso de agua inclinando la laminilla y tocando su borde en la varilla de vidrio .

F. Colocar sobre la superficie del portaobjetos alcohol ácido al 3% (solución decolorante). El alcohol ácido remueve la carbol fucsina contenida en el frotis a excepción de la que ha teñido los bacilos. Por esta propiedad los bacilos son conocidos como ácido-alcohol resistentes (fig. 17).



Figura 17. Decoloración con alcohol ácido.

G. Dejar el alcohol ácido sobre el portaobjetos de 1 a 2 minutos. Si no se da el tiempo suficiente de decoloración otras bacterias y contenidos del frotis pueden retener la carbol fucsina, dando como resultado falsos positivos.

H. Enjuagar cuidadosamente con agua destilada, como se mostró en la fig. 15.

a) Si el frotis queda con una coloración rosada intensa, aplicar alcohol ácido una segunda vez, dejándolo por un minuto más.

b) Volver a enjuagar cuidadosamente con agua destilada.

c) Inclinar el portaobjetos para eliminar el exceso de agua (fig. 16).

I. Cubrir con azul de metileno todo el portaobjetos (fig. 18).

a) El azul de metileno es el colorante de contraste: tiñe todo menos el bacilo.

b) El contraste existente entre los bacilos ácido alcohol resistentes teñidos de rojo por la carbol fucsina y el resto del frotis teñido de color azul débil, hace más fácil la observación del bacilo.

c) Dejar el azul de metileno sobre el portaobjetos no más de 1 minuto.

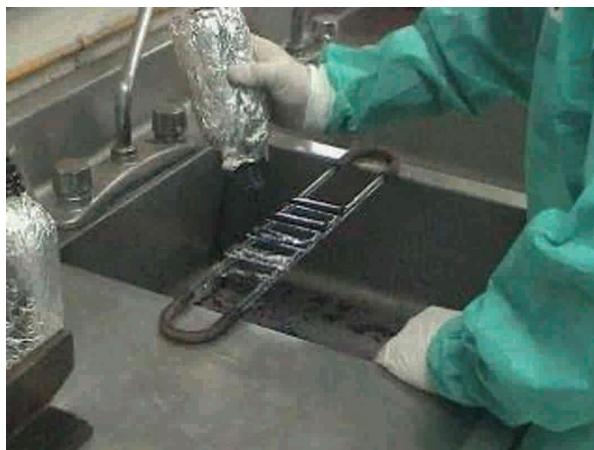


Figura 18. Tinción de contraste con azul de metileno.

J. Enjuagar el portaobjetos cuidadosamente con agua destilada (fig. 15).

K. Limpiar la parte inferior (cara opuesta a la del frotis) de cada lámina con un algodón impregnado con alcohol ácido para eliminar los restos de colorantes, ya que éstos pueden interferir en la lectura (fig. 19).

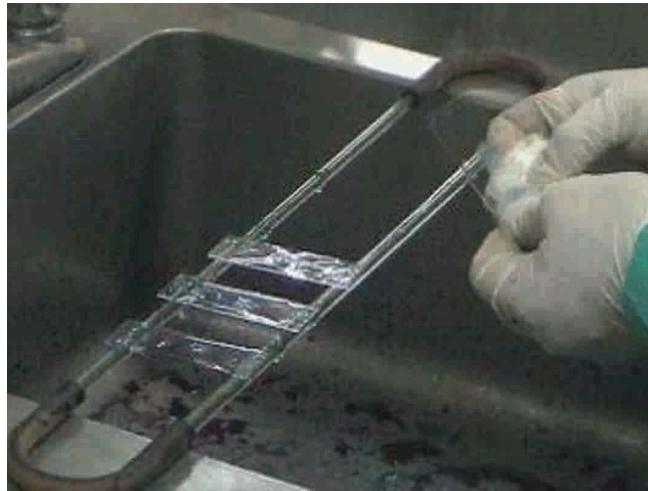


Figura 19. Limpieza de la cara opuesta al frotis con algodón impregnado con alcohol ácido

I. Dejar secar a temperatura ambiente sobre una gradilla (fig. 20). No secar las laminillas por calentamiento.



Figura 20. Secado final de las laminillas antes de observarlas al microscopio.

M. Examinar un extendido cuando aún está húmedo puede dañar la lente del microscopio y puede provocar dificultades en el enfoque y la lectura. Verificar que el extendido sobre la laminilla ha secado y entonces examinarlo al microscopio.

## LECTURA, INTERPRETACIÓN E INFORME DE RESULTADOS

Microscopía.



Figura 21a. Área de microscopía. Observación.



Figura 21b. Registro de resultados.

### 1. Observación microscópica.

Para lograr un exámen microscópico de excelente calidad es preciso contar con un buen microscopio y un área de observación apropiada (fig. 21a y 21b). La lectura de los frotis debe ser de manera sistemática para asegurar que un área determinada se lea una sola vez, se recomienda el siguiente procedimiento:

A. Colocar una gota de aceite de inmersión en el extremo izquierdo del frotis teñido.

- a) El aceite de inmersión es necesario para la observación con el lente objetivo de 100x
- b) No dejar que el aplicador del aceite toque el frotis, porque se puede contaminar el aplicador, si esto sucede se pueden llevar bacilos ácido-alcohol resistentes de un portaobjetos a otro generando como resultado falsos positivos.

B. Enfocar el portaobjetos con el lente objetivo de 40x antes de usar el de 100x

- a) La lente objetivo de 40x permite encontrar el área adecuada a examinar.
- b) Usar solamente el tornillo de ajuste macrométrico para enfocar.

C. Después de encontrar el área adecuada, cambiar a la lente objetivo de 100x. El ajuste en el enfoque debe hacerse solamente con el tornillo micrométrico: no usar el tornillo macrométrico, se puede romper la laminilla y dañar el microscopio.

D. No dejar que la lente objetivo toque el portaobjetos, esto podría dañarla, romper la laminilla, o levantar fragmentos del frotis y transferirlos a la siguiente laminilla que se examine, produciendo como resultado falsos positivos.

- E. Examinar sistemáticamente 100 campos útiles. Para ello, realizar una serie de barridas a lo largo del frotis (fig. 22).
- F. Después de observar un campo microscópico, desplazar el portaobjetos longitudinalmente para poder examinar el campo contiguo.

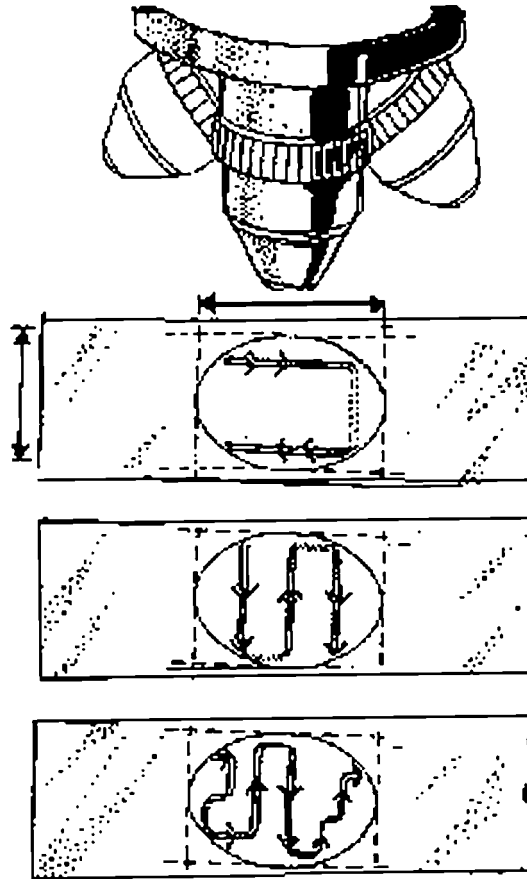


Figura 22. Ruta de exámen de la laminilla para evitar examinar más de una vez un mismo campo.

La experiencia con los microscopistas nos dice que se necesitan 5 minutos para examinar cada frotis. Si se examina un frotis por un período de tiempo menor o no se hace cuidadosamente, se pueden ignorar los bacilos presentes en el frotis y reportarlo como negativo cuando es evidentemente positivo (examina cada frotis como si fuera de uno de los miembros de tu familia). Para que un microscopista pueda mantener su habilidad en la lectura debe examinar al menos 2 ó 3 frotis por día. Cada frotis debe observarse en superficie y en profundidad, para lo cual se utilizará constantemente el tornillo micrométrico. Se aconseja utilizar un cuadrículado con 100 cuadros para registrar en cada uno de ellos los hallazgos correspondientes a cada uno de los 100 campos microscópicos útiles (fig. 23). Los resultados de cada campo deben anotarse inmediatamente después de su inspección (fig. 21b).


0	0	0	1	0	1	0	0	0	3
1	0	0	0	2	1	1	0	0	0
2	0	0	1	0	0	0	0	1	0
0	3	0	0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
1	0	0	0	1	2	2	1	3	1
0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
0	3	0	0	0	1	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	2	0	1	0	0	0	0	4	0

Figura 23. Formato de registro de resultados por campo y ejemplo de datos consignados en el formato. Resultado: (No. de bacilos/No. de campos); Resultado: (49/100) Positivo (+)

Se considera campo microscópico útil aquel en el cual se observan elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas). Los campos en que no se encuentren estos elementos no deben tomarse en cuenta. Terminada la observación de cada laminilla, limpiar el aceite de inmersión del objetivo con papel seda o gasa, absorbiendo el aceite sin frotar la superficie de la lente.

## 2. Limpieza del microscopio

Al terminar la observación es indispensable limpiar el aceite de inmersión de los lentes objetivos con papel especial para lentes impregnado con xileno. No usar bencina, acetona o thinner, estos solventes dañan los lentes objetivos. Si se tiene buen cuidado del microscopio durará por muchos años.

## 3. Informe de resultados

La observación microscópica debe establecer en primer lugar, la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes en el frotis y en tal caso, el número promedio aproximado observado por campo microscópico. Para los frotis teñidos por la técnica de Ziehl-Neelsen se recomienda utilizar «La tabla para clasificar el resultado» y saber el número de campos que se deben examinar (fig. 24).

- a) Clasificar el resultado del frotis por número de cruces indica aproximadamente el tamaño de la lesión y la capacidad infectiva del paciente; además provee de información epidemiológica y la evolución del tratamiento.
- b) Cada paciente diagnosticado como positivo deberá iniciar su tratamiento, el cual debe ser controlado bacteriológicamente mediante una baciloscopía mensual. La baciloscopía debe ser negativa entre el 2do y 3er mes del tratamiento y continuar así hasta el final.



<b>Tabla para clasificar el resultado</b>	
<b>Negativo (-)</b>	No se observan bacilos ácido-alcohol resistentes en 100 campos microscópicos.
<b>De 1 a 9 BAAR*</b>	Informar el número de bacilos en 100 campos observados.
<b>Positivo (+)</b>	Menos de un bacilo por campo en promedio (de 10 a 99 bacilos), en 100 campos observados.
<b>Positivo (++)</b>	De uno a diez bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.
<b>Positivo (+++)</b>	Más de 10 bacilos por campo en 20 campos observados.
* Bacilos Ácido Alcohol Resistentes	

Figura 24. Tabla para clasificar resultado

- c) Si la baciloscopía continua siendo positiva después del 3er mes, se recomienda hacer cultivo para confirmar el fracaso del tratamiento si los bacilos son viables y poder realizar la identificación de la especie micobacteriana.

#### 4. Registro de resultados

Todos los resultados de los frotis deben anotarse en la libreta de laboratorio y en la solicitud de examen. La información de la libreta debe incluir: el número de laboratorio, el nombre del paciente, domicilio, sexo, edad, el nombre del centro de salud, señalar si se trata de frotis o muestra, tipo y calidad de la muestra, los resultados de la baciloscopía y las observaciones, si fuera necesario (ver anexos 1 y 3). Todos los resultados positivos deben ser escritos en la libreta de laboratorio con tinta roja. Esto servirá para encontrarlos rápidamente. Registrar los resultados apropiadamente es tan importante como la tinción y la lectura correcta de un frotis por lo que debe:

- a) Verificar que el número en la laminilla sea el mismo de la solicitud de examen.
- b) Escribir siempre la fecha de reporte y anotar el nombre y firma de quien lo realizó.
- c) Enviar los formatos completos correspondientes de regreso al médico tratante para su información y la acción necesaria. Es muy importante que los resultados no tarden más de un día, el tratamiento del paciente depende de ellos. Una demora reduce el valor de todo el trabajo que se ha hecho al examinar el frotis correctamente.
- d) Si el paciente ha sido referido e iniciará tratamiento en la unidad de salud donde se encuentra el microscopista, dar los resultados al médico que lo tratará.
- e) Si el paciente ha sido referido de otra unidad de salud, hacer una copia del formato del laboratorio para el paciente y enviar el original al médico tratante en el centro de salud que se encuentre.
- f) No dar resultados únicamente al paciente. Si éste no los entrega al médico de su centro de salud, no recibirá tratamiento.

## Conservación de baciloscopias para supervisión.

### 1. Lavado.

Al terminar la lectura lavar los portaobjetos suavemente con xilol, dejar secar y colocarlos en una caja ordenados. Si no se lavan con xilol pueden pegarse por el aceite y será difícil que el supervisor pueda examinarlos y revisarlos posteriormente. Aunque el xilol no daña el frotis ni la tinción, no hay que lavar vigorosamente pues pueden desprenderse los frotis del portaobjetos.

### 2. Almacenamiento.

No debe desechar ninguna laminilla hasta que hayan sido examinadas por un supervisor. Mientras tanto deben conservarse en un lugar frío y seco, ordenadas por fecha, en una caja que impida la exposición a la luz y al polvo. La luz puede producir pérdida del color rojo de los bacilos teñidos; el polvo puede dificultar la lectura.

## Limpieza de portaobjetos.

### 1. Portaobjetos nuevos.

Para hacer una baciloscopía es indispensable que los portaobjetos sean siempre nuevos. Cuando éstos necesiten una limpieza previa, se remojan en alcohol al 70% y se dejan secar.

### 2. Portaobjetos usados.

Los portaobjetos usados pueden limpiarse colocándolos en un recipiente con hipoclorito de sodio al 30% durante 48 horas. Lavar con agua corriente, enjuagar con agua destilada y secar a temperatura ambiente. Estos portaobjetos no deben ser usados nuevamente en el diagnóstico de tuberculosis. Si el laboratorio carece de suficientes portaobjetos, podrá reutilizar los de baciloscopías negativas en algún otro tipo de examen, **¡no en baciloscopía!** (Ej. paludismo, hematología, etc.).

### 3. Eliminación de portaobjetos

Los portaobjetos que ya han sido sometidos a supervisión deben ser colocados en un envase para vidrio (contenedor de materiales punzocortantes), para posteriormente ser esterilizados y desechados.

## Causas de error en la baciloscopía.

### 1. Relacionadas con la muestra.

- a) Muestra inadecuada, en calidad o volumen.
- b) Lavado ineficiente de los frascos para colección de muestra: puede dejar residuos los cuales pueden dar origen a resultados falsos positivos.
- c) Falta de cuidado al etiquetar el frasco: la etiqueta debe ser colocada sobre el cuerpo del frasco, no sobre la tapa.

### 2. Relacionadas con la preparación del frotis.

- a) No tomar la porción mucopurulenta de la muestra al realizar el frotis.
- b) Tomar poca cantidad de muestra para hacer el extendido.
- c) Preparar demasiados frotis a la vez: el máximo recomendado es de 12 por vez.



- d) Reutilizar laminillas de baciloscopías positivas (éstas deben ser descartadas).
- e) Muestras contaminadas por el manejo inadecuado de aplicadores de madera.
- f) Área de trabajo insuficiente.
- g) Mezclar laminillas.

### 3. Relacionadas con la tinción

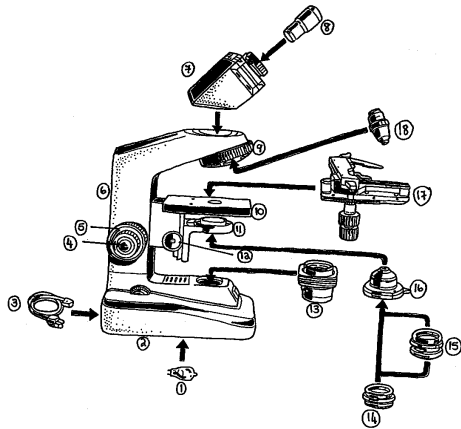
- a) Uso de laminillas rayadas: los depósitos de colorante en las hendiduras pueden confundirse con bacilos.
- b) Uso de carbol-fucsina sin filtrar: puede contener cristales o colorante precipitado.
- c) Descuido al calentar la carbol-fucsina: el secado excesivo o la ebullición produce formación de cristales en el frotis.
- d) Inadecuada decoloración del frotis: el lavado insuficiente puede dejar teñidos bacilos saprófitos que se confundirán con bacilos ácido-alcohol resistentes.

### 4. Relacionados con la lectura

- a) Lectura de un número de campos menor de lo indicado.
- b) Falta de habilidad para distinguir los bacilos de los artefactos de la tinción.
- c) No verificar el número del portaobjetos.
- d) No volver a rotularlo si el número se oscurece o desaparece durante la tinción: esto puede llevar a confundir o sustituir un frotis por otro.
- e) Rotulado poco claro o ilegible.
- f) Limpieza inadecuada u omisión de ésta del objetivo 100x después de cada lectura, especialmente cuando se han examinado frotis positivos.
- g) Presencia de bacilos en el aceite de inmersión, causado por el contacto entre el frotis y la punta del aplicador o la boca del frasco del aceite: debe utilizarse un gotero y dejar caer la gota evitando el contacto con el frotis.
- h) Registro equivocado de los resultados.

El microscopio (fig. 25).

Las partes del microscopio.



1. Foco
2. Base del microscopio
3. Cable de conexión
4. Tornillo micrométrico
5. Tornillo macrométrico
6. Estativo (brazo)
7. Tubo
8. Oculares
9. Revólver
10. Platina
11. Portacondensador
12. Elevador del condensador
13. Condensador y/o diagrama de campo
14. Filtro
15. Filtro de campo oscuro (opcional)
16. Condensador y Diafragma de iris
17. Carro de la Platina
18. Lente objetivo

Figura 25. Descripción del microscopio

### Mantenimiento.

El microscopio es un instrumento de precisión y requiere de un cuidadoso mantenimiento del sistema óptico y mecánico. Los laboratoristas deben estar familiarizados con sus componentes, su funcionamiento en general y cuidados básicos del equipo.

#### 1. Cuidados Básicos.

- a) Mantener el microscopio en su caja o con una cubierta que lo proteja del polvo cuando no esté en uso.
- b) Evitar exponer el microscopio a la humedad. Esta provoca el desarrollo de hongos en las lentes y causa oxidación en los componentes metálicos. Para limitar la exposición a la humedad colocar un plato no muy hondo (Ej. caja de petri) que contenga sílica gel, en la caja del microscopio o donde quiera que el microscopio se guarde. Cuando la sílica gel ha absorbido mucha humedad cambia de color (del azul al rosa), en tal situación la sílica gel debe ser reemplazada o deshidratada en un horno de aire caliente y rehusada cuando recobre su color original.
- c) Evitar guardar el microscopio en un lugar donde haya reactivos químicos, agua o vapores de gases corrosivos.
- d) El microscopio debe ser levantado o cargado con las dos manos: una sujetando el brazo firmemente y la otra bajo la base para proporcionar soporte adicional. No mover el microscopio con una sola mano.
- e) Instalar el microscopio en una superficie nivelada y resistente: no colocar equipos o b)

instrumentos cercanos, que generen vibraciones (Ej. centrífugas) en la misma mesa.

- f) Si el microscopio va a ser usado diariamente no se debe mover del sitio donde está instalado, pero cuando no se use cuidar de cubrirlo con una cubierta de polietileno o plástico para evitar que las lentes se rayen debido a la presencia de polvo o arena en sus superficies.
- g) Limpiar las lentes solo con papel especial (papel seda) o un hisopo de algodón ligeramente humedecido con alcohol. La tela u otros tipos de papel no deben usarse ya que rayan la superficie de las lentes. Tampoco use jabón o bencina, acetona, thinner u otros solventes.

## 2. Procedimientos después de cada sesión de trabajo:

- a) Limpiar el aceite de inmersión del objetivo 100x, la lente del condensador y los oculares, con papel para lentes o un hisopo de algodón ligeramente humedecido con alcohol.
- b) Apagar la fuente de iluminación. Ajustar el regulador variable de voltaje, colocándolo al mínimo antes de apagar la lámpara.
- c) Colocar la cubierta del microscopio.

## 3. Mantenimiento Mensual (limpieza más minuciosa y cuidadosa):

- a) Usar una brocha de aire para quitar el polvo, (una brocha de aire simple se puede hacer con una pipeta Pasteur y un bulbo de hule). Limpiar las lentes objetivos, oculares y el condensador con papel seda y/o un hisopo de algodón ligeramente humedecido con alcohol.
- b) Quitar el carro de la platina y limpiarlo.
- c) Retirar el polvo del cuerpo del microscopio y del cristal de la lámpara en la base con toallas de papel o gasa humedecidas con agua y/o alcohol.

## 4. Mantenimiento preventivo y correctivo especializado:

- a) El mantenimiento preventivo debe ser programado para interferir al mínimo con el trabajo de baciloscopia y periódico para asegurar el funcionamiento óptimo del equipo.
- b) Se recomienda realizarlo una vez al año como mínimo.
- c) El mantenimiento correctivo, que contempla reparaciones y reemplazo de piezas dañadas del microscopio debe ser realizado solamente por personal técnico especializado.

## 5. Iluminación de Kohler.

Toda observación al microscopio requiere de una iluminación óptima. Esto se logra mediante la alineación del sistema óptico por medio del procedimiento denominado «Iluminación de Kohler», que debe realizarse de acuerdo al siguiente procedimiento:

- a) Encender el microscopio.
- b) Ajustar el condensador para campo claro.
- c) Enfocar una preparación con el objetivo 10x
- d) Subir completamente el condensador con la lentilla puesta a 0.9
- e) Cerrar el diafragma de campo para poder encontrar el haz luminoso (su contorno es

hexagonal).

- f) Bajar lentamente el condensador hasta observar nítidamente el hexágono.
- g) Centrar el hexágono con los tornillos del portacondensador.
- h) Abrir el diafragma hasta que el campo claro este completamente iluminado.
- i) Dar contraste a la imagen con el diafragma de iris.

## 2. Bioseguridad

En el trabajo bacteriológico de la tuberculosis.

Riesgo de infección.

El manejo de muestras clínicas de pacientes con tuberculosis es un factor de riesgo importante para el personal médico y de laboratorio. La principal vía de infección es la respiratoria, por lo tanto hay que impedir la inhalación de aerosoles producidos durante la manipulación de muestras contaminadas que llegan fácilmente hasta los alvéolos pulmonares. Existen medidas para controlar ese riesgo de tal forma que las posibilidades de infección sean mínimas.

### 1. Nivel de riesgo.

El *Mycobacterium tuberculosis* se incluye en el grupo de riesgo tipo III en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 1983, junto con otros microorganismos que causan infección por vía aérea.

### 2. Aerosoles mayores a 5 micras.

Las gotitas grandes de aerosoles (de más de 5 micras) se sedimentan rápidamente y contaminan la piel, la ropa y la superficie de la mesa de trabajo y área circunvecina. Las partículas infectantes en el laboratorio se derivan de gotitas húmedas descargadas en el aire por procedimientos que liberan aerosoles, por ejemplo:

- a) Cuando estallan burbujas.
- b) Cuando se producen salpicaduras de líquidos a través de aberturas pequeñas.
- c) Cuando una gota o burbuja se impacta en una superficie.

### 3. Aerosoles menores a 5 micras.

Sin embargo los aerosoles más peligrosos son los que producen núcleos de gotitas, es decir, partículas secas y diminutas de menos de 5 micras de tamaño que pueden contener uno o varios bacilos viables y que pueden permanecer suspendidos en el aire por largos periodos de tiempo. Las medidas de bioseguridad que deben ponerse en práctica en el laboratorio deben ir encaminadas a:

- a) Minimizar la producción y dispersión de aerosoles y partículas infectantes.
- b) Evitar que los trabajadores inhalen estas partículas.
- c) Evitar la infección por inoculación o ingestión accidental.

Para ello se requiere que el trabajador este consciente de la responsabilidad que tiene de mantener su seguridad, la de sus compañeros y la forma de hacerlo. Es imprescindible que el laboratorista sea una persona disciplinada que conozca y aplique las prácticas microbiológicas estándar así como las prácticas y procedimientos de seguridad para el manejo de *M. tuberculosis*. Su observancia escrupulosa durante el desarrollo de la técnica es insustituible. Ni siquiera el equipo más sofisticado de protección puede sustituir el orden y cuidado con que se trabaje.

## Procedimientos de bioseguridad

A continuación se describen algunas acciones generales que permiten mantener la seguridad, tomando en cuenta los siguientes factores: área de trabajo, personal, precauciones en el trabajo y otros procedimientos de riesgo.

### 1. En el área de trabajo

Debido a que el área donde se manipulan las muestras se considera «área contaminada», se deben tomar las siguientes precauciones:

- a) Ubicarla en un sitio alejado de la entrada al laboratorio o de lugares donde se produzcan corrientes de aire.
- b) Mantener la puerta cerrada, de preferencia con presión de aire ligeramente negativa.
- c) Evitar la entrada de personas ajenas al laboratorio.
- d) Limitar a lo estrictamente indispensable el tránsito de personal que trabaje en esa área mientras se realizan los extendidos.
- e) Contar sólo con el equipo y elementos necesarios, sin objetos o mobiliario superfluo. Los cuadernos y libros de trabajo que deban estar ahí no se trasladarán a otras áreas.
- f) No debe haber teléfono en el área de trabajo.
- g) Desinfectar la superficies de trabajo al inicio y al término de los procedimientos.
- h) Los pisos y las paredes del laboratorio en el «área contaminada» deben ser lisos y lavables: azulejos, mosaicos, pintura de aceite, etc.
- i) Limpiar todos los días con soluciones detergentes y/o desinfectantes autorizados.
- j) No barrer, no encerar y no sacudir en seco.
- k) Colocar en la puerta del laboratorio carteles con los siguientes datos:
  - ✓ Logotipo de riesgo biológico.
  - ✓ Nombre científico del agente etiológico que se manipula.
  - ✓ Nivel de bioseguridad requerido para su manejo.
  - ✓ Nombre y número telefónico del jefe de laboratorio.

### 2. Para el personal de laboratorio

Trabajar en un laboratorio donde se hace diagnóstico de tuberculosis es un factor de riesgo para adquirir la enfermedad por lo que dicho personal debe observar las siguientes medidas de prevención:

- a) Antes de incorporarse al laboratorio, el personal candidato a trabajar en bacteriología de la tuberculosis debe recibir una capacitación que incluya las medidas a tomar para su seguridad personal y la del grupo de trabajo.
- b) Antes de incorporarse al laboratorio el personal debe someterse a un examen médico y radiológico de tórax, con resultados normales y a una prueba con PPD que debe resultar positiva. Si ésta es negativa, se procede a vacunar con BCG y se admite al personal después que se haya verificado su positividad a la prueba de PPD.
- c) Es conveniente que el personal se realice una radiografía de tórax una vez al año. Se deben archivar las placas anuales de cada trabajador y en caso de ser necesario realizar un examen comparativo.

d) En caso de que un trabajador presente sintomatología compatible con tuberculosis se le debe remitir al médico quien indicará si es pertinente realizar baciloscopia y cultivo.

### 3. Procedimientos de riesgo.

Las acciones que pueden ocasionar infecciones en el laboratorio, son aquellas en que se producen aerosoles, tales como:

- a) La toma de la muestra.
- b) La apertura del envase con la muestra.
- c) La preparación del extendido.
- d) El flameo del asa metálica (por eso es recomendable el uso de aplicadores de madera).

### 4. Precauciones en el trabajo.

Para disminuir el riesgo de infección, las actividades anteriores deben ser realizadas de acuerdo a las siguientes indicaciones:

- a) Usar siempre bata blanca de manga larga (debe dejarse en el laboratorio y esterilizarse en autoclave o hervirse antes del lavado), también pueden utilizarse batas desechables de manga larga, utilizar guantes desechables (fig. 26).
- b) Es recomendable, aunque no indispensable, utilizar mascarillas o respiradores adecuados.
  - ✓ Las mascarillas apropiadas deben tener la denominación NIOSH 95 o N 95, (fig. 27).
  - ✓ Los cubrebocas para cirugía no proporcionan la protección requerida.
- c) Desinfectarse frecuentemente las manos usando jabón, cepillo, abundante agua antes y después de manipular y procesar las muestras.
- d) En el laboratorio está prohibido fumar, comer, beber, peinarse, aplicarse cosméticos o manipular lentes de contacto.
- e) Nunca pipetear con la boca: utilizar siempre bulbos de seguridad.



Figura 26. Vestimenta de laboratorio recomendada para la realización del frotis y la tinción de Ziehl-Neelsen.



Figura 27. Respirador NIOSH 95, recomendado para trabajar con *M. tuberculosis*. Debe tener inscrita la denominación NIOSH 95 o N 95.

#### 5. Otros procedimientos riesgosos.

La recolección de la muestra de expectoración de pacientes tosedores expone al personal del laboratorio a un riesgo elevado de infección por los aerosoles producidos. Las precauciones que deben tomarse para reducir este riesgo son las siguientes:

- a) Instruir al paciente a cubrirse la boca mientras tose.
- b) La persona que da las instrucciones se debe ubicar siempre detrás y no delante de los pacientes que tosen.
- c) Colectar las muestras al aire libre donde los aerosoles se diluyen en el aire y se esterilizan por acción de la luz solar directa.
- d) Durante la recepción, transporte y conservación de la muestra usar guantes.
- e) Se recomienda descontaminar el frasco por fuera y transportarlo en recipientes seguros, bien tapados y que no tengan fugas.
- f) Se recomienda procesar la muestra lo más pronto posible. Si la muestra no es procesada de inmediato, debe mantenerse en refrigeración (4°C), para evitar la proliferación de la flora asociada y la producción de gases que aumentan la presión dentro del frasco y al destaparlo generan aerosoles.

#### g) Desecho de muestras y material contaminado.

Las muestras examinadas así como el material de laboratorio usado durante el procedimiento de las baciloscopias son potencialmente infecciosos y deben ser desinfectados o esterilizados antes de ser eliminados, para evitar el riesgo de infección. La esterilización puede ser realizada de varias formas:

- En olla de presión o autoclave. Durante 20 minutos a 121 °C.
- Mediante ebullición sumergidos en agua. Hervir por lo menos durante 20 minutos.
- Agregándoles el desinfectante de acuerdo a sus especificaciones.
- Quemándolos en un lugar apropiado fuera del laboratorio.

- h) En caso de derrame de una muestra en charolas, mesas de trabajo o el piso, vertir fenol al 5% sobre éste, cubrir con papel y vertir más fenol al 5%, dejarlo actuar por lo menos treinta minutos antes de limpiar el área. Eliminar apropiadamente los desechos, si hay material de vidrio recoger con pinzas para evitar cortaduras, los residuos deben ser esterilizados antes de desecharlos.



## 6. Desinfectantes.

### a) Generalidades.

Para descontaminar las áreas de trabajo contaminadas y el material usado se pueden utilizar varios compuestos químicos. En la elección del desinfectante adecuado se debe considerar:

- ✓El microorganismo al que va dirigido.
- ✓La concentración utilizada.
- ✓El tiempo de contacto.
- ✓La presencia de desechos orgánicos.

### b) Recomendados para el laboratorio de tuberculosis

Los más apropiados para el uso en el laboratorio de tuberculosis son aquellos que contienen fenoles, hipocloritos, formaldehídos, glutaraldehídos, iodóforos, o alcoholes. Las soluciones de trabajo deben ser de preparación reciente. Su almacenamiento prolongado disminuye su actividad desinfectante.

### c) Especificaciones de uso.

- ✓Fenol: Utilizar a una concentración del 2-5%. El tiempo de contacto es de 15 a 30 minutos dependiendo del tipo y volumen del material a desinfectar. Usar aplicándolo directamente e impregnando toallas de papel, periódico o gasa que cubran la superficie de trabajo. Esto reduce al mínimo las salpicaduras y la formación de aerosoles en caso de derrame de material contaminado, evitar inhalar sus vapores que son tóxicos.
- ✓Hipoclorito: Utilizar a una concentración de 1-5%. El tiempo de contacto es de 15 a 30 minutos. Las soluciones al 5% son útiles para desinfectar material que contiene restos orgánicos debido a su acción oxidativa.
- ✓Glutaraldehído: No requiere dilución (se vende al 2%), pero sí un activador (bicarbonato de sodio). Es útil para descontaminar superficies y material de vidrio. La solución activada no debe usarse después de dos semanas y deberá descartarse si se enturbia. Aplicar sobre el derrame de manera similar al fenol. Hay que evitar inhalar sus vapores que son tóxicos.
- ✓Iodóforos: Se utilizan a una concentración de 3-5%. El tiempo de contacto es de 15 a 30 minutos. Son útiles para desinfectar material derramado y para lavarse las manos.
- ✓Alcoholes: El de uso más generalizado es el etanol al 70%. Se usa en los recipientes de arena-alcohol, para limpiar las asas bacteriológicas y para descontaminar superficies. Cuando se contaminan las manos es útil enjuagarse con alcohol isopropílico al 70% y después lavarse con agua y jabón abundantes.

### d) No recomendados

No usar antisépticos ni desinfectantes de uso general, ya que pueden tener escasa o nula actividad contra las micobacterias. Los compuestos de amonio cuaternario no son efectivos contra el *M. tuberculosis* a las concentraciones de uso recomendadas.



### 3. Red de Laboratorios

La bacteriología constituye uno de los componentes fundamentales del programa nacional de prevención y control de la tuberculosis. El diagnóstico bacteriológico se apoya en una red de laboratorios pertenecientes a diferentes niveles administrativos y con diferentes capacidades de diagnóstico.

#### **Estructura y función.**

Organización.

La organización de la red nacional de laboratorios de tuberculosis se basa en los siguientes principios generales:

1. La red está integrada por laboratorios de distintos niveles administrativos (federal -central, estatal y local) y capacidad diagnóstica.
2. Las técnicas, procedimientos y métodos utilizados deben ser uniformes y siguiendo las normas que establece el nivel central.
3. Existe una descentralización ejecutiva del nivel estatal bajo la supervisión del nivel central.
4. Existe una coordinación entre los laboratorios con diferente capacidad diagnóstica, de tal manera que aquellos con menores recursos tengan también acceso a técnicas más especializadas.
5. La red de laboratorios está organizada en:
  - a) Nivel local, constituido por laboratorios de establecimientos de atención primaria de salud (centros de salud y algunos hospitales). Las unidades donde solo se recolectan muestras están incluidas en este nivel.
  - b) Nivel intermedio o estatal, constituido por laboratorios estatales de salud pública (LESP).
  - c) Nivel regional, constituido por laboratorios estatales con mayores recursos técnicos. Dan servicio a otros laboratorios estatales circunvecinos, proporcionándoles diagnósticos más complejos.
  - d) Nivel central, representado por el laboratorio del Departamento de Micobacterias del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.

#### **Función**

Los laboratorios de la red deben cumplir dos grandes grupos de funciones de acuerdo con el lugar que ocupan dentro de la red nacional de laboratorios de tuberculosis: las técnicas y las relacionadas con el Programa Nacional de Control de Tuberculosis.

1. Funciones técnicas: efectuar los exámenes de laboratorio que les corresponden acorde con los recursos necesarios disponibles y servir de referencia a los niveles de menores recursos.
  - a) Unidades de recolección de muestras:
    - ✓ Recolectan las muestras correspondientes a su área geográfica.
    - ✓ Envían expeditamente las muestras al laboratorio de nivel local con el que se encuentren coordinadas.

b) Laboratorios locales:

- ✓ Cuentan con los recursos humanos y materiales necesarios para efectuar las baciloscopías solicitadas en su ámbito geográfico o administrativo y reciben las enviadas por otras unidades que no cuentan con laboratorios y que sólo recolectan muestras.
- ✓ Refieren a los laboratorios estatales las muestras que requieren técnicas de análisis más complejas.
- ✓ Participan en los programas de supervisión y control de calidad de la red y envían información sobre sus actividades al nivel estatal.

c) Laboratorios estatales (LESP):

- ✓ Efectúan las baciloscopías y los cultivos de las muestras enviadas por los laboratorios que constituyen la red estatal.
- ✓ Adiestran al personal en las técnicas de baciloscopía o cultivo, cuando éstas se puedan efectuar en el nivel local.
- ✓ Participan en los programas de supervisión y control de calidad, supervisando al nivel local y siendo supervisados por el nivel nacional (central).
- ✓ Recopilan analizan y evalúan la información cuantitativa y cualitativa enviada por los laboratorios locales que conforman la red.
- ✓ Concentran la información de los niveles locales, estatales y la envían al nivel nacional.
- ✓ Dan asesoramiento acerca de los requerimientos de materiales e insumos en los niveles locales.
- ✓ Participan en actividades de investigación.

d) Laboratorios regionales:

- ✓ Son laboratorios estatales con mayores recursos técnicos, humanos, y materiales para realizar estudios más sofisticados.
- ✓ Permiten descentralizar los estudios de sensibilidad a medicamentos e identificación de cepas.
- ✓ Apoyan a laboratorios estatales circunvecinos que requieren de sus servicios.

e) Laboratorio central:

- ✓ Representado por el Departamento de Micobacterias del InDRE.
- ✓ Es el laboratorio de referencia en la especialidad para todo el país.
- ✓ Establece las normas en lo que atañe a los métodos y técnicas de la especialidad.
- ✓ Efectúa los estudios de sensibilidad e identificación de cepas solicitados por los demás laboratorios del país.
- ✓ Adiestra al personal de los laboratorios en las técnicas de bacteriología que se requieran.
- ✓ Coordina las actividades de la Red con los Laboratorios de nivel estatal.
- ✓ Realiza la supervisión directa e indirecta de los servicios de nivel estatal.
- ✓ Da las pautas para la supervisión de los laboratorios de nivel local por parte de los laboratorios estatales.
- ✓ Recopila, analiza y evalúa la información cuantitativa y cualitativa de las actividades realizadas por la Red Nacional de Laboratorios de la especialidad.

- ✓ Realiza y coordina investigaciones técnicas, operacionales y epidemiológicas en la especialidad.
- ✓ Se coordina con el Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis.

2. Funciones relacionadas con el Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis: coordina sus actividades con los niveles superiores e inferiores, supervisa, brinda asesoramiento, adiestramiento y evalúa las actividades bacteriológicas de acuerdo con las metas programáticas.

### 3. Normas técnicas y de procedimientos

La utilidad, la prioridad y los alcances con que se pueden usar las diversas técnicas de la bacteriología de la tuberculosis dependen del momento epidemiológico en que se encuentre cada país o región y de los recursos de laboratorio de que disponga. De acuerdo a la situación epidemiológica de nuestro país y por su utilidad en el diagnóstico etiológico y en el control de la eficacia del tratamiento se considera que la baciloscopia y el cultivo son las técnicas básicas apropiadas, como se especifica en la Norma Oficial Mexicana NOM -006-SSA2-1993, para la prevención y control de la tuberculosis en la atención primaria a la salud.

#### a) Para el diagnóstico

- ✓ Baciloscopia: Es una técnica sencilla, de rápida ejecución, bajo costo y alta especificidad. Aunque su sensibilidad no es muy alta, permite identificar a los enfermos bacilíferos. Su empleo está indicado en la investigación sistemática del sintomático respiratorio adulto que consulta a los servicios de salud. Los sintomáticos respiratorios constituyen el grupo prioritario en la localización de casos, ya que entre ellos se encuentra la mayor parte de los enfermos bacilíferos, que son la principal fuente de transmisión de la enfermedad. La mayoría acude a los servicios de salud por distintas causas, oportunidad en que es posible su detección. Actualmente, los enfermos bacilíferos forman el grupo predominante de los casos de tuberculosis detectados o notificados en México (80% aprox.) y en la mayoría de los países de América Latina y el Caribe. Aunque el cultivo es el método de diagnóstico de mayor sensibilidad y especificidad, su costo y complejidad técnica es mayor que el de la baciloscopia y requiere de más tiempo para la obtención de resultados.
- ✓ Cultivo: Esta técnica está indicada cuando se trata de muestras clínicas que por la alta probabilidad de tener un escaso contenido bacilar deben ser procesadas por una técnica más sensible. Debido a su costo, necesidad de equipo adicional y tiempo de obtención de resultado, se utilizará en los casos siguientes:
  - Para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar en los casos de sintomáticos respiratorios con baciloscopías negativas y radiología anormal.
  - El diagnóstico de tuberculosis de localización extrapulmonar.
  - El diagnóstico de la tuberculosis en niños.
  - La investigación de contactos con adultos que presentan síntomas respiratorios o exámen radiológico anormal y baciloscopías negativas.
  - El diagnóstico de los casos asociados TB-VIH/SIDA.

b) Para el control de la eficacia del tratamiento.

Puesto que el objetivo de la quimioterapia es eliminar la población bacilar hasta lograr la curación del enfermo, su eficacia debe ser medida bacteriológicamente.

✓ Baciloscopia. En la inmensa mayoría de los casos de tuberculosis pulmonar, una baciloscopia mensual es suficiente para controlar la evolución del enfermo durante el tratamiento. Cabe subrayar al respecto que la interpretación correcta de los resultados es fundamental y que no se debe suspender el tratamiento para tomar la muestra del control bacilosκόpico mensual. En los casos en que la evolución es favorable, la baciloscopia revela una disminución del contenido bacilar hasta la negativización bacteriológica. Al mismo tiempo, los síntomas clínicos del paciente irán disminuyendo hasta desaparecer. La mayoría de los enfermos nuevos con régimen estándar se negativizan entre el 2o y 3er mes de tratamiento por lo que en los meses subsecuentes es probable que las muestras dejen de ser mucopurulentas y sólo se obtenga saliva. A pesar de ello, dichas muestras deben ser procesadas, indicando al dar el resultado, la calidad de dichas muestras.

Si la evolución del enfermo es desfavorable, los resultados de la baciloscopia pueden mostrar un contenido bacilar semejante al del inicio o después de un periodo de negativización, tornarse nuevamente positivos y mantenerse así. En estos casos, si se tiene la certidumbre de que el tratamiento estándar ha sido supervisado y administrado regularmente, se debe dar la indicación de realizar cultivo para confirmar la viabilidad de las micobacterias y hacer su identificación.

Para confirmar la curación del paciente al final del tratamiento las baciloscopias deben ser negativas en los últimos 2 meses.

✓ Cultivo: A causa de que en los tratamientos abreviados es frecuente la persistencia de eliminación de bacilos no viables, cuando se sospecha una evolución bacilosκόpica desfavorable, es conveniente confirmar el posible fracaso mediante el cultivo entre el 3º y 4º mes de tratamiento. Para confirmar la curación del paciente, con un cultivo negativo al final del tratamiento. Además, el cultivo es imprescindible para realizar las pruebas de sensibilidad a los medicamentos antituberculosos y la identificación de la especie.

c) Técnicas complementarias

✓ Pruebas de sensibilidad: El uso de esquemas terapéuticos en los que se combinan varios medicamentos de alta eficacia hace que no sea necesaria la ejecución rutinaria de la prueba de sensibilidad al inicio del tratamiento. Sólo se justifica en casos de enfermos con antecedentes de tratamientos repetidos con varias drogas que tienen un alto riesgo de ser farmacoresistentes. Los resultados de la prueba pueden ser útiles para la elección de un régimen terapéutico individual óptimo. En los pacientes en quienes se ha confirmado por cultivo el fracaso del tratamiento, es aconsejable efectuar la prueba de sensibilidad a las drogas ya empleadas (no, a las que no se han administrado) para saber si alguna es aún útil en el momento de cambiar el esquema. Los estudios de sensibilidad también se utilizan para determinar la prevalencia de resistencia primaria y secundaria en un país permitiendo evaluar indirectamente la organización de la administración del tratamiento en un programa, y elegir regímenes terapéuticos estandarizados. Estos estudios deben ser planificados por el nivel central del programa y realizados con la periodicidad que se estime conveniente.

✓ Pruebas de identificación: Las pruebas de identificación están indicadas fundamentalmente en los casos en los que en el cultivo se observaron colonias de características morfológicas diferentes a las habituales del *M. tuberculosis* o cuando el paciente persiste positivo durante el tratamiento.

## 4. Supervisión de La Red de Laboratorios y Control de Calidad

### Generalidades.

La supervisión es un proceso educativo y motivador recíproco; permanente; regular y planificado; que permite desarrollar los conocimientos y la capacidad del personal; fomentar una actitud positiva hacia el trabajo y mantener la calidad técnica en todos los niveles operativos de la red. Su realización es responsabilidad prioritaria de los niveles nacional y estatal de la red. La supervisión requiere llevar a cabo de manera sistemática la observación, coordinación, corrección, enseñanza, estímulo y evaluación de las actividades del personal de los laboratorios con la finalidad de que el trabajo se realice eficientemente.

### Objetivos.

Los objetivos específicos de la supervisión son:

1. Verificar la calidad de las técnicas y procedimientos estandarizados para el diagnóstico de la tuberculosis.
2. Recopilar información para evaluar y asesorar a los laboratorios de la red.
3. Mantener la coordinación adecuada de la Red de Laboratorios en todos sus niveles.

### Métodos de supervisión.

La supervisión de la Red de Laboratorios de Tuberculosis se realiza mediante la supervisión directa que consiste en la visita a los laboratorios y la supervisión indirecta o control de calidad que se efectúa a distancia mediante el envío y relectura de baciloscopías.

#### Supervisión directa

Este tipo de supervisión consiste en visitar los laboratorios de la red para evaluar directamente las condiciones de trabajo así como los procedimientos técnicos y administrativos de cada uno de ellos. Se lleva a cabo en función de los recursos y facilidades de que dispongan los niveles estatal y nacional de la red. La supervisión se debe realizar en forma sistemática y planeada, se debe avisar con anticipación a los laboratorios que serán supervisados. Antes de realizar la visita se tendrá una entrevista con el director de la institución y cuando corresponda, con el jefe del laboratorio para exponerle los objetivos de la misma. Además de recomendarse como una actividad regular y periódica, es conveniente realizar la supervisión en los siguientes casos:

1. Cuando se presenten discordancias o deficiencias técnicas reiteradas en un laboratorio, detectadas mediante la supervisión técnica indirecta.
2. Por errores u omisiones importantes y repetidas detectadas durante la supervisión administrativa indirecta (informes mensuales).
3. Cuando entre en funciones personal de nuevo ingreso o el laboratorio realice una nueva técnica (baciloscopía, cultivo, etc.).

Durante la realización de la supervisión directa, los aspectos que deben ser observados son los relacionados con:

1. Laboratorio

a) Local.

- ✓ Independiente o incluido en el laboratorio general.
- ✓ Espacio de trabajo (suficiente/insuficiente).
- ✓ Iluminación.
- ✓ Ventilación.
- ✓ Instalaciones (luz, agua, gas).
- ✓ Orden y aseo.

b) Personal encargado de las baciloscopías.

- ✓ Categoría profesional, auxiliar o de servicio.
- ✓ Dedicación exclusiva o parcial a la bacteriología de la tuberculosis.
- ✓ Suficiencia o número de horas de labor.
- ✓ Actitud ante la supervisión.
- ✓ Conocimiento y observancia de las medidas de bioseguridad.
- ✓ Capacitación recibida.

c) Materiales y equipos.

- ✓ Tipo de microscopio.
- ✓ Condiciones.
- ✓ Mantenimiento.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Cámara o estufa de cultivo.
- ✓ Agitador.
- ✓ Centrífuga.
- ✓ Esterilizador.
- ✓ Coagulador.
- ✓ Refrigerador.
- ✓ Provisión de reactivos.
- ✓ Envases para muestras.
- ✓ Láminas.
- ✓ Aplicadores.
- ✓ Frascos para reactivos, etc.



## 2. Medidas de bioseguridad

### a) Del personal.

- ✓ Prueba tuberculínica intradérmica al ingreso.
- ✓ Vacunación BCG a los no reactivos a esta prueba.
- ✓ Baciloscopia en caso de síntomas respiratorios.
- ✓ Radiografía de tórax una vez al año en los establecimientos donde exista el equipo.

### b) Área de trabajo.

- ✓ Señalización del área contaminada.
- ✓ Flujo de aire negativo.
- ✓ Uso de antisépticos.
- ✓ Uso de bata, guantes y mascarilla (si la tienen), para trabajos en el área contaminada.

## 3. Organización interna:

- a) Disponibilidad de manuales técnicos y de normas de procedimientos.
- b) Disponibilidad de manuales de bioseguridad.

## 4. Coordinación con otros niveles de la red:

- a) Lugar de procedencia de las muestras.
- b) Condiciones de recepción: adecuadas o inadecuadas.
- c) Volumen de muestras (número máximo de muestras diarias y horario).
- d) Tiempo para la entrega de resultados.
  - ✓ Derivación de muestras a un laboratorio de mayor complejidad para cultivo o aplicación de otras técnicas.
  - ✓ Condiciones, tiempo de conservación y transporte de las muestras.

## 5. Técnica bacilosópica: observación directa de las diversas etapas.

### a) Muestra:

- ✓ Sistema de recolección.
- ✓ Envase.
- ✓ Cantidad.
- ✓ Calidad.
- ✓ Número.
- ✓ Identificación.
- ✓ Tiempo transcurrido entre la recepción de la muestra y la ejecución del extendido.
- ✓ Calidad de los portaobjetos utilizados.

### b) Extendido:

- ✓ Elección de la partícula útil.
- ✓ Identificación de láminas.
- ✓ Grosor y tamaño.
- ✓ Secado.
- ✓ Fijado.
- ✓ Homogeneidad.

6. Tinción.

- a) Estado de los reactivos (caducidad, periodicidad de filtrado, conservación).
- b) Procedimiento de tinción.
- c) Calentamiento de la fucsina.
- d) Lavados.
- e) Decoloración.
- f) Coloración de fondo.

7. Lectura e informe de resultados.

- a) Técnica de observación.
- b) Número de campos observados.
- c) Informe del resultado según pautas.

8. Conservación de láminas positivas y negativas para la supervisión.

- a) Análisis de resultados de supervisiones previas en baciloscopía.
- b) Lectura de frotis positivos y negativos escogidos al azar para observación y corrección de errores.

9. Cultivo.

- a) Observación de los métodos seguidos para el tratamiento, homogeneización, neutralización y siembra de la muestra.
- b) Número e identificación de tubos sembrados.
- c) Evaluación de criterios de lectura e informe de cultivos mediante su revisión conjunta en la estufa o cámara.
- d) Determinación de porcentajes de contaminación de muestras y de tubos.
- e) Determinación del porcentaje de positividad.

10. Preparación de reactivos.

- a) Técnica.

- b) Frecuencia.
  - c) Conservación.
11. Preparación del medio de cultivo.
- a) Reactivos y métodos.
  - b) Coagulación (tiempo y temperatura).
  - c) Control de esterilidad.
  - d) Frecuencia de preparación.
  - e) Conservación.
  - f) Control de calidad interno y externo.
12. Esterilización y lavado de material.
- a) Manipulación del material contaminado (envases, aplicadores, etc.).
13. Aspectos administrativos
- a) Sistemas de registro.
    - ✓ Libreta de laboratorio.
    - ✓ Consignación completa de datos.
    - ✓ Numeración correlativa anual de exámenes.
  - b) Informe mensual de microscopía y cultivo.
    - ✓ Llenado completo y adecuado de la papelería.
    - ✓ Entrega oportuna de resultados.
    - ✓ Análisis cuantitativo y cualitativo de la información.
    - ✓ Correlación con la demanda programada.
  - c) Control de calidad.
    - ✓ Participación.
    - ✓ Periodicidad del envío de láminas.
    - ✓ Resultados.
    - ✓ Verificación de los conocimientos sobre los procedimientos administrativos para los laboratorios de bacteriología de la tuberculosis.
14. Informe de la visita.
- a) Al término de la visita se informará brevemente al director del establecimiento lo observado.
    - ✓ Problemas encontrados.
    - ✓ Sugerencias para su resolución.
  - b) Se deja constancia de la visita en la libreta de laboratorio.
  - c) Posteriormente se realiza un informe escrito de la visita de supervisión en el que se consignará.

- ✓ Un resumen de lo observado.
- ✓ Se formulan las recomendaciones o sugerencias para corregir las fallas encontradas.

Es necesario reiterar que la supervisión contribuye en forma decisiva al éxito o fracaso de un programa y que por ende, debe ser una actividad regular, permanente y sistematizada. Sin embargo, no hay que olvidar que es un medio y no un fin en si misma, que es un conjunto de herramientas que permite hacer un diagnóstico de la situación y aplicar las medidas correctivas apropiadas. En caso de que se detecte algún problema, la capacitación resulta de gran utilidad para mejorar posibles deficiencias.

Supervisión indirecta o control de calidad.

Se efectúa a distancia y consiste en la comparación de los resultados de la lectura de láminas de baciloscopías y el análisis y evaluación de la información mensual enviada por los laboratorios. Este procedimiento contempla dos aspectos: el técnico y el administrativo.

#### 1. Supervisión técnica.

La supervisión técnica indirecta o control de calidad de las baciloscopías puede llevarse a cabo por diferentes métodos:

##### a) Relectura de láminas.

La relectura de láminas consiste en el envío de láminas del trabajo diario de los laboratorios locales a los LESP y de estos al laboratorio central para comparar los resultados de lectura y evaluar la aplicación de la técnica bacilosκόpica. Los laboratorios de nivel estatal tendrán bajo su supervisión a su red local y el laboratorio nacional, a los de nivel estatal.

##### ✓ Laboratorios supervisados

Todos los laboratorios que efectúan baciloscopías tienen la obligación de conservar todas las láminas tanto positivas como negativas, para que con la periodicidad requerida puedan ser enviadas para su relectura. Para su conservación, las láminas se lavan de acuerdo a los procedimientos detallados en la sección correspondiente de materiales y métodos de este manual. Se hace una lista con el número y resultado de cada una de las láminas usando el formato denominado «Supervisión de baciloscopías, Relación de relectura de frotis» (anexo 5).

Los laboratorios supervisados se coordinarán con el laboratorio supervisor para establecer la periodicidad de los envíos de láminas. La capacidad del laboratorio supervisor determinará la frecuencia de las solicitudes de laminillas para supervisión. Se recomienda efectuar como mínimo cuatro supervisiones al año a cada laboratorio de la red. Para este procedimiento de supervisión, los LESP solicitarán al nivel local todas sus laminillas positivas y 10% de las negativas; el nivel nacional solicitará a los LESP el 10% de sus láminas positivas y negativas.

El laboratorio supervisado debe seleccionar las láminas que enviará de manera aleatoria. Nunca deben escogerse intencionalmente las mejores, ni marcar el resultado en la lámina que será enviada a control de calidad.

##### ✓ Laboratorios supervisores

En el laboratorio supervisor, la lectura debe efectuarse de acuerdo con la norma de informe estándar. El lector supervisor no debe conocer el resultado de la lectura de las láminas del laboratorio supervisado para que el resultado previo no influya en el resultado obtenido por el supervisor. Simultáneamente con la lectura se efectuará un análisis

técnico de la lámina: grosor, regularidad del extendido y tinción: presencia de precipitados o cristales de fucsina, defectos de decoloración y características de la tinción de fondo.

Una vez efectuada la lectura, se compararán los resultados con los enviados por el laboratorio supervisado. Si la comparación de lectura (positiva-negativa) muestra diferencias en el informe de una o más láminas, el laboratorio supervisor deberá realizar una segunda lectura en la que se hará una observación minuciosa y de mayor número de campos, procurando agotar las posibilidades de error. Si después de esta segunda lectura persiste la diferencia, la lámina puede ser catalogada como una «discordancia». Si el 50% o más de las láminas revisadas presenta deficiencias técnicas en el extendido o la tinción, el laboratorio será catalogado «con deficiencias técnicas».

El hallazgo de discrepancias o deficiencias técnicas en un laboratorio local determina de manera prioritaria que se realice en él una supervisión directa en la que se le solicitará una nueva lectura de la o las láminas discrepantes, se revisará el informe original en el libro de registro y se descartarán errores en la identificación o transcripción de resultados en la nómina de láminas enviadas para ser supervisadas. Si una vez realizadas éstas actividades persiste la discordancia, se hará una revisión detallada de todas las etapas de la técnica para determinar las causas que la originaron y establecer las medidas y procedimientos adecuados. Si por razones de fuerza mayor no fuese posible efectuar la visita de supervisión directa en tiempo oportuno (no más de un mes), el supervisor enviará al supervisado la o las láminas discrepantes, le solicitará que haga una nueva lectura de ellas y que verifique el resultado en los sistemas de registro. La causa más frecuente que origina las discrepancias o deficiencias técnicas es la falta de capacitación del personal, por lo que el supervisor deberá proponer su adiestramiento a las autoridades correspondientes. Es preferible que los microscopistas no realicen baciloscopías hasta haber sido nuevamente capacitados.

✓ Registro e información de la supervisión técnica indirecta.

Los laboratorios supervisores deben mantener un registro con las actividades de la supervisión técnica indirecta, que deberá incluir el formato de registro de lectura y relectura de láminas (Anexos). Los LESP deben elaborar un concentrado de las supervisiones realizadas a sus laboratorios locales en el formato correspondiente (Anexos) y enviarlo junto con sus láminas al nivel central.

b) Prueba de eficiencia. Consiste en la preparación de un lote de láminas por el laboratorio central mediante una tecnología estandarizada. Generalmente se prepara un lote de 10 láminas: 5 teñidas y 5 sin teñir y se envían al laboratorio respectivo para supervisar su capacidad técnica de lectura y tinción. Los resultados de PT se evalúan de acuerdo a los siguientes criterios:

- ✓ Cada lámina correctamente leída (concordante) tiene el valor de 1 punto. Por lo tanto, el valor total de la prueba es de 10 puntos.
- ✓ Si una lámina es negativa y se reporta como positiva, es decir **falsa positiva**, resta 1 punto a la calificación final.
- ✓ Si una lámina es positiva y se reporta como negativa, es decir **falsa negativa**, resta 1 punto a la calificación final.

✓ En la calificación se restan 0.2 puntos si la lámina es positiva pero hay discordancia leve en el número de bacilos observados, por ejemplo:

Lámina con bacilos contables (1-9) y se reporta como positiva +

Lámina positiva ++ y se reporta como positiva +++

Lámina positiva ++ y se reporta como positiva +, etc.

En la calificación se resta 0.4 puntos si la lámina es positiva pero hay discordancia grave en el número de bacilos observados. Ej.

Lámina con bacilos contables (1-9) y se reporta como positiva ++ o positiva +++

Lámina positiva + y se reporta como positiva +++

Lámina positiva +++ y se reporta como positiva +

### **Calificación final de la prueba de eficiencia.**

Si el evaluado obtiene:

De 8 a 10 puntos, se considera aprobado (A)

De 6 a 7.9 puntos, se considera condicionado (C)

De 0 a 5.9 puntos, se considera reprobado (R)

Los microscopistas condicionados (C) y reprobados (R) deberán ser readiestrados y sometidos de nuevo a la prueba para su aprobación.

Es conveniente que el equipo del nivel estatal efectúe un análisis global de la información mensual del programa, para establecer las relaciones pertinentes entre las diversas actividades: localización de casos, exámenes bacteriológicos, notificación, enfermos en tratamiento, etc.



**SECRETARIA DE SALUD**  
**PROGRAMA NACIONAL DE MICROBACTERIOSIS**  
**INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS**  
**SOLICITUD E INFORME DEL RESULTADO DEL EXAMEN**  
**BACTERIOLÓGICO**

<b>DIAGNOSTICO</b>	1a	
	2a	
	3a	
<b>CONTROL</b>		MES
<b>No. EXP.</b>		

**UNIDAD DE SALUD** \_\_\_\_\_ **Entidad Federativa** \_\_\_\_\_

**SOLICITANTE** \_\_\_\_\_ **Localidad** \_\_\_\_\_

<b>NOMBRE</b> Apellido Paterno _____	<b>EDAD</b>	Nombre(s) _____
<b>DOMICILIO</b> Calle y número _____	<b>SEXO</b> F M	<b>Localidad</b> _____ <b>Ciudad</b> _____ <b>Estado</b> _____

**TIPO DE MUESTRA:** \_\_\_\_\_ **CALIDAD: ADECUADA, MUCOPURULENTO ( ) INADECUADA, SALIVA ( )**

<b>BACILOSCOPIA</b> <input type="checkbox"/>	<b>FECHA DE ENVIO DE LA MUESTRA:</b> Día _____ Mes _____ Año _____	<b>SOLICITANTE:</b> _____ Nombre Completo y Firma
<b>CULTIVO</b> <input type="checkbox"/>		

<b>LABORATORIO:</b> Localidad _____ Entidad Federativa _____	<b>RESULTADO</b>	
<b>NUMERO DE LABORATORIO DADO A LA MUESTRA</b> _____	<b>BACI- LOS- COPIA</b>	NEGATIVO (-) <input type="checkbox"/> POSITIVO (++) <input type="checkbox"/> De 1 a 9 BAAR _____ POSITIVO (+++) <input type="checkbox"/> POSITIVO (+) <input type="checkbox"/>
	<b>C U L T I V O</b>	NEGATIVO (-) <input type="checkbox"/> POSITIVO (++) <input type="checkbox"/> POSITIVO, NUMERO DE COLONIAS _____ POSITIVO (+++) <input type="checkbox"/> POSITIVO (+) <input type="checkbox"/> CONTAMINADO
<b>FECHA DE INFORME DEL RESULTADO</b> Día _____ Mes _____ Año _____		
<b>LABORATORISTA:</b> Nombre Completo y Firma _____		

## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DE LA SOLICITUD E INFORME DEL RESULTADO DEL EXAMEN BACTERIOLÓGICO.

Este formato deberá ser llenado con todos los datos que se indican, por cada una de las muestras que se envíen al laboratorio.

### Cuadro parte superior derecha.

**Diagnóstico 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup>** : Marcar con una "x" en el cuadro correspondiente cuando se trate de la primera, segunda o tercera muestra.

**Control:** Anotar con número el mes correspondiente (se debe procesar **UNA** muestra mensual).

**Número de expediente:** Se anotará en número del expediente del enfermo.

### Resto de la solicitud.

**Unidad de salud solicitante:** Se anota el tipo de unidad (centro de salud, clínica, hospital, etc.), la localidad y municipio en donde se encuentra la unidad y el estado al que pertenece.

**Nombre:** Registrar apellido paterno, materno y nombre o nombres.

**Edad:** Anotar en el cuadro respectivo la edad en años cumplidos.

**Sexo:** Marcar con una "x" la letra F(femenino) o M (masculino), para marcar el sexo al que pertenece la persona examinada.

**Domicilio:** Anotar el domicilio particular del paciente, calle y número, colonia, barrio, sector, etc.

**Tipo de muestra:** Anotar si la muestra es expectoración, jugo gástrico, etc.,

**Calidad:** Marcar con una "x" si es adecuada (mucopurulenta) o inadecuada.

**Baciloscopía:** Marcar con una "x" el cuadro, si se solicita baciloscopía ( para diagnóstico se examinan tres muestras).

**Cultivo:** Marcar con una "x" el cuadro, si se solicita cultivo. ( Este estudio se realiza en el Laboratorio Estatal o en el I.n.D.R.E.)

**Fecha de envío de la muestra:** Registrar la fecha, ( día, mes y año ) en que se envía la muestra al laboratorio.

**Solicitante:** Nombre y firma del médico que solicita el examen.

**Laboratorio:** Anotar la localidad y la entidad federativa del laboratorio que realiza el examen.

**Número de laboratorio:** Anotar el número de laboratorio que corresponde a la muestra examinada.

**Fecha de informe de resultado:** Anotar el día, mes y año en que se informa el resultado.

**Laboratorista:** Anotar el nombre y firma de quien efectuó el examen de baciloscopía y/o cultivo.

### Resultado.

**Baciloscopía:** Marcar con una "x" en el cuadro respectivo, el resultado obtenido en la lectura: Si es negativo (-), si el resultado es de 1 a 9 bacilos (BAAR), se anotará el número exacto de bacilos que se hayan encontrado en 100 campos. (Ej. **5 bacilos**) o positivo de (+), (++) o (+++) .

**Cultivo:** Marcar con una "x" en el cuadro correspondiente si el resultado del cultivo es negativo (-), si el cultivo es positivo con menos de 20 colonias se anotará el número de colonias, si es positivo con más de 20 colonias se marcará una "x" en positivo de (+), (++) o (+++) según el número de colonias que tenga el cultivo o contaminado; si el medio de los tubos sembrados se licuó o muestra algún tipo de contaminación.





## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DE LA LIBRETA DE LABORATORIO DE TUBERCULOSIS.

**Año:** Anotar el año en curso.

**Número progresivo de laboratorio:** Inicia en enero con el número 1 para la primera muestra, 2 para la segunda y así sucesivamente hasta terminar el año, cada muestra deberá anotarse con un número exclusivo y progresivo.

**Nombre:** Anotar lo más completo que sea posible el o los nombres y los apellidos paterno y materno del examinado.

**Domicilio:** Registrar calle y número, colonia, barrio, sector, etc. (o cualquier otro dato que sirva para localizar al paciente).

**Edad y sexo:** Anotar con número la edad en años cumplidos del examinado, en el cuadro de la columna correspondiente al sexo: M (masculino) o F (femenino).

**Unidad de salud solicitante:** Anotar el nombre o siglas de la unidad que solicita el examen.

**Frotis o muestra:** Anotar en la columna una **F** si lo que llegó al laboratorio fue el frotis elaborado y fijado en campo, es decir fuera del laboratorio, o una **M** si lo que llegó al laboratorio fue la muestra.

**Tipo de muestra:** Anotar el tipo de muestra que se examina (expectoración, jugo gástrico, etc.).

**Calidad de la muestra:** Marcar con una "X" en A (adecuada) si es mucopurulenta y en cantidad suficiente o en I (inadecuada) si está en malas condiciones, contaminada, saliva, etc. (La saliva se considera mala muestra para diagnóstico, pero adecuada en casos de control de tratamiento después del tercer mes con una evolución satisfactoria del paciente). Si se trata de frotis, marcar con una "x" en A (adecuado) si tiene el tamaño y grosor indicados por la técnica o en I (inadecuado) si es demasiado grueso o delgado, o su tamaño es mayor o menor de 2 x 1 cm.

### Resultados.

**Diagnóstico 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>:** Anotar cuidadosamente si la muestra es negativa, sobre el renglón que corresponda al número de laboratorio otorgado a la muestra y en la columna N, el símbolo (-) dentro de un paréntesis.

Si la muestra es positiva, en la columna titulada P se anotará el resultado con número exacto de bacilos cuando sean entre 1 y 9, o con número de cruces dentro de un paréntesis. Ejemplo: (+), (++) o (+++).

**Control:** Si la muestra examinada es de un enfermo en control de tratamiento, se anotará su resultado negativo o positivo utilizando los signos descritos en el párrafo anterior y en las columnas N o P correspondientes a control.

**Observaciones:** Anotar si existiera algún dato importante en relación con la muestra que se procesa.

**FORMATO PARA EL ENVIO DE MUESTRAS**

FORMATO 2000-1

**DATOS DE LA INSTITUCION SOLICITANTE:**

INSTITUCION: \_\_\_\_\_  
 PERSONA RESPONSABLE DEL ENVIO: \_\_\_\_\_  
 CALLE: \_\_\_\_\_ COLONIA: \_\_\_\_\_  
 POBLACION: \_\_\_\_\_ ESTADO: \_\_\_\_\_ C.P. \_\_\_\_\_  
 TEL.: \_\_\_\_\_ FAX: \_\_\_\_\_  
 (Indispensable)

**DATOS DEL PACIENTE:**

NOMBRE O CLAVE: \_\_\_\_\_  
Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno  
 CLAVE UNICA DE REGISTRO DE POBLACION (CURP): \_\_\_\_\_

LOCALIDAD: \_\_\_\_\_ MUNICIPIO: \_\_\_\_\_

ESTADO: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ años / meses / días O FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año

GENERO:  M  F No. EXPEDIENTE \_\_\_\_\_ OCUPACION: \_\_\_\_\_

HOSPITALIZACION:  SI  NO SITUACION DEL PACIENTE  VIVO  MUERTO

**INFORMACION DE LA MUESTRA:**

TIPO:  SUERO  ORINA  CEPA  LCR ESPUTO: ( CON SANGRE  MUCUPURULENTO  SALIVA)  
 EXUDADO  BIOPSIA  LAMINILLA  UÑAS  GARGARISMO  IMPRONTA  SANGRE  PIEL  
 TEJIDO CEREBRAL  PIEL CABELLUDA  LAVADO NASOFARINGEO HECES: ( SOLIDA  PASTOSA  LIQUIDA)

OTRAS: \_\_\_\_\_

MUESTRA:  UNICA  1a.  2a.  3a. OTRA(S): \_\_\_\_\_

MUESTRA:  SUFICIENTE  INSUFICIENTE ORIGEN:  HUMANA:  ANIMAL:  ALIMENTO:  AGUA:

**INFORMACION PARA EL DIAGNOSTICO:**

DIAGNOSTICO PRESUNTIVO: \_\_\_\_\_

ESTUDIO(S) SOLICITADO(S): \_\_\_\_\_

JUSTIFICACION DEL ENVIO:

DIAGNOSTICO  REFERENCIA  CONTROL DE CALIDAD 1.- Resultado(s) del control de calidad  
 BROTE  CONTROL DEL TRATAMIENTO  ENCUESTA O INVESTIGACION 2.- \_\_\_\_\_

FECHAS: DE TOMA: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año DE INICIO DE SINTOMAS: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año DE ENVIO: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año DE RECEPCION \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año

¿HA ESTADO EN CONTACTO CON CASOS SIMILARES?  SI  NO  SE IGNORA EN EL LABORATORIO:

EN CASO AFIRMATIVO INDIQUE: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año Y \_\_\_\_\_ Lugar geográfico

¿EFECTUO ALGUN VIAJE 5 DIAS PREVIOS AL INICIO DE LA ENFERMEDAD?  SI  NO

ESPECIFIQUE LOS LUGARES VISITADOS: \_\_\_\_\_

EXPOSICION CON ANIMALES:  SI  NO ESPECIE ANIMAL: \_\_\_\_\_

EN CASO DE SOSPECHA DE RABIA CONTESTE LO SIGUIENTE: ¿SUFRIÓ AGRESION POR PARTE DEL ANIMAL SEÑALADO?: SI  NO

SITIO ANATOMICO DE LA LESION: \_\_\_\_\_ NUMERO DE PERSONAS QUE ESTUVIERON EN CONTACTO CON EL ANIMAL: \_\_\_\_\_

EDAD DEL ANIMAL: \_\_\_\_\_ FECHA DE MUERTE DEL ANIMAL: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año CAUSA DE LA MUERTE: \_\_\_\_\_

TIPO DE VACUNA: \_\_\_\_\_ FECHA DE ULTIMA DOSIS: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ día / mes / año

SIGNOS DE ANIMAL AGRESOR:

AGRESIVIDAD  FOTOFOBIA  HIDROFOBIA  ANOREXIA  AEROFOBIA  SALIVACION PROFUSA  
 INCOORDINACION  INQUIETUD  PARALISIS  MANDIBULA CAIDA  SALIVACION LIQUIDA

CONTINUA 

**INFORMACION COMPLEMENTARIA PARA EL DIAGNOSTICO**

EN CASO DE SOSPECHA DE TUBERCULOSIS CONTESTE LO SIGUIENTE:

¿HA RECIBIDO TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSIS?  SI  NO

FECHA DE LA ULTIMA TOMA: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

EN CASO AFIRMATIVO INDIQUE CUALES:

ESTREPTOMICINA  ISONIACIDA  RIFAMPICINA  ETAMBUTOL

PIRAZINAMIDA  ETIONAMIDA OTRAS: \_\_\_\_\_

AREA EXCLUSIVA DE LLENADO POR EL LABORATORIO QUE REALIZA LA PRUEBA:

RESULTADOS:

BACIOSCOPIA:  NEG  No. BACILOS (1 - 9)  +  ++  +++

CULTIVO:  NEGATIVO  POSITIVO No. DE COLONIAS (1 - 19)

POSITIVO +  POSITIVO ++  POSITIVO +++  CONTAMINADO

P. SENSIBILIDAD  ESTREPTOMICINA  ISONIACIDA  RIFAMPICINA

ETAMBUTOL  PIRAZINAMIDA  ETIONAMIDA

OTRAS: \_\_\_\_\_

IDENTIFICACION: \_\_\_\_\_

FECHA DEL RESULTADO: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

FACTORES (ASOCIADOS) DE RIESGO:

DONADOR  HEMOFILICO  HETEROSEXUAL PROMISCUO

HOMOSEXUAL  BISEXUAL  PROSTITUTA(O)  USO DE DROGAS IV

FIEBRE

FECHA DE INICIO \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ TEMPERATURA \_\_\_\_\_

DURACION \_\_\_\_\_ DIAS PERIODICIDAD \_\_\_\_\_

EXANTEMA

FECHA DE INICIO \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ FECHA DE TERMINO \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

MACULAR  PAPULAR  ERITEMATOSO  VESICULAR

COSTRA  PUSTULA  KOPLIK

RESPIRATORIOS

RINITIS  NEUMONIA  FARINGITIS  DISNEA

DISFONIA  TOS  RINORREA  APNEA

CIANOSIS  DOLOR O ARDOR DE GARGANTA

CONGESTION NASAL

CARDIOVASCULAR

MIOCARDITIS  ENDOCARDITIS  PERICARDITIS  VASCULITIS

FLEBITIS

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CRISIS CONVULSIVAS  MENINGITIS  HIDROCEFALIA

CALCIFICACIONES  PARALISIS  COMA

INCOORDINACION  PARANOIA  ALUCINACIONES

CAMBIOS DE CONDUCTA  FOTOBIA  HIDROFOBIA

HIPERENSION ENDOCRANEAL

GASTROINTESTINAL

DIARREA (  SANGUINOLENTA  MUCOSA  PROLONGADA (MAS DE UNA SEMANA)

NUM. DE EVACUACIONES EN LA ULTIMAS 24 HORAS: \_\_\_\_\_

NUM. DE CUADROS DIARREICOS DURANTE EL AÑO: \_\_\_\_\_

CONSTIPACION  ANOREXIA  DOLOR ABDOMINAL

VOMITO  DESHIDRATACION (  LEVE  MODERADA  SEVERA)

GENERALES  ADENOMEGALIA (Cervicales, supraclaviculares o retroauriculares)

MIALGIAS  CONJUNTIVITIS  CORIORRETINITIS

ESPLENOMEGALIA  HEPATOMEGALIA  LINFADENOPATIA

LESION DE MUCOSAS  FATIGA  EDEMA

CEFALEA  ARTRALGIAS  ICTERICIA

POSTRACION  ESCALOFRIO  CIANOSIS

HEMOPTISIS  MALFORMACIONES CONGENITAS

URETRITIS  FLUJO VAGINAL  ULCERAS

VESICULAS  CHANCRO  CHANCROIDE

SUDORACION PROFUSA  DOLOR RETROOCULAR

SINDROME DE DESGASTE  DOLOR DURANTE LA MICCION

SINDROME UREMICO HEMOL  ANTECEDENTES DE MEGASINDROMES

ESTADO DE ENFERMEDAD

SINTOMATICO  ASINTOMATICO  AGUDO

CRONICO  DISEMINADO  LOCALIZADO

RECAIDA  EXTRAINTestinal  DEFUNCION

CONVALECIENTE

EMBARAZO FECHA DE LA ULTIMA REGLA \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

OTROS \_\_\_\_\_

HEMORRAGIAS Y ALTERACIONES HEMATOLOGICAS

EQUIMOSIS  PLAQUETOPENIA  EPISTAXIS

MELENA  HEMATEMESIS  HEMOCONCENTRACION

ASCITIS  METRORRAGIA  CORIZA

HEMATURIA  PETEQUIAS  GINGIVORRAGIA

RECTORRAGIA  EOSINOFILIA

TRATAMIENTO

¿HA RECIBIDO TRATAMIENTO ESPECIFICO?  SI  NO

¿CUAL? \_\_\_\_\_

FECHA DE INICIO \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ FECHA DE TERMINO \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

DOSIS  CONVENCIONAL  ESPECIAL

ESPECIFIQUE \_\_\_\_\_

ANTECEDENTES VACUNALES

TIPO DE VACUNA: \_\_\_\_\_

FECHA DE VACUNACION: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

NOTAS ADICIONALES: (Resultados de laboratorio y gabinete importantes al caso)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

OBSERVACIONES

- A) NO SE RECIBIRA MUESTRA ALGUNA SI NO VIENE ACOMPAÑADA DE ESTE FORMATO
- B) VERIFICAR QUE EL NOMBRE DEL PACIENTE SEA EL MISMO EN LA MUESTRA QUE EN ESTE FORMATO
- C) UTILIZAR LETRA DE MOLDE EN EL FORMATO Y EN LA ETIQUETA DE LA MUESTRA
- D) LA MUESTRA DEBE IDENTIFICARSE UTILIZANDO UNA CINTA DE TELA ADHESIVA, ESCRITA CON LAPIZ, DONDE SE INCLUYAN LOS DATOS RELEVANTES DEL CASO COMO:
  - NOMBRE O CLAVE - DIAGNOSTICO PRESUNTIVO
  - FECHA DE TOMA - TIPO DE MUESTRA INDICANDO TAMBIEN SI ES 1a., 2a., 3a., ETC.
  - SI ES CEPA ANOTAR LA FECHA DE SIEMBRA
- E) ENVIAR LA MUESTRA ADECUADA Y EN CANTIDAD SUFICIENTE AL ESTUDIO SOLICITADO

## INSTRUCTIVO DE LLENADO DEL “FORMATO PARA ENVÍO DE MUESTRAS”

Este formato debe llenarse por cada una de las muestras que se envía al laboratorio del InDRE.

### Datos de la institución solicitante

**Institución:** El nombre de la unidad de salud y la institución a la que pertenece.

**Persona responsable del envío:** Nombre completo del responsable del envío de la muestra.

**Calle:** Nombre de la calle donde se ubica la unidad de salud.

**Colonia:** Nombre de la colonia, barrio o sector.

**Población:** Nombre de la localidad o municipio donde se encuentra la unidad.

**Estado:** Entidad federativa a la que pertenece la población o localidad.

**C.P.:** Anotar el código postal que corresponda a la colonia, barrio o sector donde está la unidad que envía la muestra.

**Tel:** Anotar el número telefónico de la unidad, incluyendo la clave lada.

**Fax:** Anotar el número de fax, incluyendo la clave lada. Este número es indispensable para informar el resultado del estudio.

### Datos del paciente

**Nombre o clave:** Nombre o nombres, apellido paterno y materno del paciente.

**Clave Única de Registro de Población (CURP):** Número otorgado en una credencial por la Secretaría de Gobernación como número de identificación para cada poblador de la República Mexicana.

**Localidad:** Nombre de la localidad o población donde reside el paciente.

**Municipio:** Nombre del municipio donde se encuentra la localidad.

**Estado:** Nombre de la entidad federativa a la que pertenece el municipio.

**Edad:** Anotar la edad del paciente numéricamente y en el orden siguiente: Años, meses y días cumplidos.

**Fecha de nacimiento:** Anotar numéricamente el día, mes y año en que nació el paciente.

**Género:** Marcar con una “x” el cuadro que corresponda al sexo del paciente, masculino o femenino.

**No. de expediente:** Anotar el número de expediente del paciente otorgado por la unidad de salud.

**Ocupación:** Anotar la ocupación actual del paciente, profesionista, empleado(a), obrero(a), jornalero(a), maestro(a), albañil, campesino(a), hogar, etc.

**Hospitalización:** Marcar con una “x” el cuadro que indique si el paciente está o no hospitalizado.

**Situación del paciente:** Marcar con una “x” el cuadro que indique si el paciente está vivo o muerto.

### Información de la muestra

**Tipo:** Anotar con una “x” el cuadro que corresponde al tipo de muestra enviada.

**Otras:** Anotar el tipo de muestra enviada si ésta no aparece en ninguno de los cuadros anteriores.

**Muestra:** Marcar con una “x” en el cuadro correspondiente, si la muestra es 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> o 3<sup>a</sup>. Y si es suficiente o insuficiente.

### Información para el diagnóstico

**Diagnóstico presuntivo:** Anotar el diagnóstico que sospecha el médico.

**Estudio(s) solicitado(s):** Anotar el nombre del o los estudios solicitados.

**Justificación del envío:** Marcar con una “x” en el cuadro que indique la justificación del envío.

**Fechas de toma, inicio de síntomas, de envío y de recepción en el laboratorio:** Anotar numéricamente las fechas solicitadas en el siguiente orden: día, mes y año.

**Información complementaria para el diagnóstico**

**En caso de sospecha de tuberculosis conteste lo siguiente:**

**¿Ha recibido tratamiento antituberculoso?** : Marcar con una “x” el cuadro que indique sí o no.

**Fecha de la última toma:** Anotar el año, mes y día en que tomó por última vez su tratamiento.

**En caso afirmativo indique cuál (es):** Marcar con una “x” los cuadros correspondientes a los medicamentos que tomó la última vez.

**Otras:** Anotar otros medicamentos si no están señalados en los cuadros anteriores.

**Síntomas:** Marcar con una “x” los cuadros que indiquen los síntomas referidos por el paciente para complementar la información diagnóstica, en: fiebre, respiratorios, sistema nervioso central, generales y estadio de enfermedad.



## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DEL INFORME MENSUAL DE MICROSCOPIA Y CULTIVO

Este informe debe ser llenado cada mes por los laboratorios de nivel local (centros de salud, hospitales, etc.) y debe ser enviado al Laboratorio Estatal.

**Institución:** Siglas de la institución a la que pertenece la unidad que reporta. ( S.S.A., I.M.S.S., I.S.S.S.T.E., etc.)

**Días laborados:** Días que laboró la unidad en el mes reportado.

**Unidad de Salud:** Tipo de unidad, Centro de Salud, Hospital General, Hospital Básico, Centro de Salud con Hospital, etc.

**Localidad:** Nombre de la población donde está ubicada la unidad de salud.

**Municipio:** Nombre del municipio al que pertenece la localidad.

**Entidad Federativa:** Nombre de la entidad federativa a la que pertenece el municipio.

**Mes:** Nombre del mes que se reporta.

**Año:** Año al que corresponde el mes reportado.

**1. Total de muestras de DIAGNÓSTICO recibidas:** Se anota el número de muestras de diagnóstico recibidas en el mes. No incluir las de control de tratamiento, ni los frotis elaborados y fijados fuera del laboratorio de **DIAGNÓSTICO**.

**1.1 No. de muestras adecuadas:** Anotar el número de muestras de buena calidad que se recibieron en el mes que se informa. No incluir las de control de tratamiento, no los frotis.

**1.2 No. de tosedores examinados en el mes:** Anotar el número de tosedores registrados en el mes.

**1.3 Total de frotis de DIAGNÓSTICO recibidos:** Anotar el número de frotis de **DIAGNÓSTICO** fijados en campo u otras unidades sin laboratorio y recibidos para su tinción y lectura. No incluir los de control de tratamiento.

**1.4 No. de frotis de DIAGNÓSTICO adecuados:** Anotar el número de frotis de **DIAGNÓSTICO** adecuados que se recibieron en el mes. No incluir los de control de tratamiento.

### 2. Baciloscopías:

**2.1 Baciloscopías de Diagnóstico:** Se anota el número de baciloscopías positivas, se registrará solo aquella con la que se descubre el caso, ( que puede ser en la primera muestra en la segunda o en la tercera). Por lo tanto, la suma de baciloscopías positivas debe corresponder al número de casos confirmados.

**Ejemplo 1:** De tres muestras positivas de un mismo paciente sólo se anota la primera positiva de diagnóstico, la segunda y la tercera se anotan como Subsecuentes positivas de diagnóstico en el cuadro correspondiente.

**Ejemplo 2:** De tres muestras la primera es negativa, se registra en el cuadro; primera/ negativas, la segunda positiva se registra en el cuadro; segunda/ positivas, si la tercera muestra es positiva se registra en el cuadro 3ª de subsecuentes de diagnóstico positivas.

Se suman las baciloscopías positivas de los tres cuadros y se anotan en sub-total.

De las baciloscopías negativas, se anota el número de las primeras, segundas y terceras muestras, así como el subtotal correspondiente.

**2.2 Subsecuentes de diagnóstico positivas:** Ya que en el cuadro anterior solo se anotará la primera muestra positiva de cada paciente, las subsecuentes positivas que se hallan procesado, se anotarán en los correspondientes 2a y/o 3a.

**2.3 Baciloscopías de control:** Se anota el subtotal de positivas y negativas realizadas a pacientes en control de tratamiento

**2.4 Suma de baciloscopías realizadas en el mes:** Es la suma de los subtotales de diagnóstico, subsecuentes de diagnóstico positivas y subtotales de control.

### 3. Cultivos:

**3.1 De Diagnóstico:** Anotar el número de cultivos de diagnóstico positivos, negativos y contaminados en el mes que se informa y anotar el total.

**3.2 De Control:** Anotar el número de cultivos de control positivos, negativos y contaminados en el mes que se informa y anotar el total.

**4. Relación de casos confirmados:** Anotar el número de laboratorio, el nombre completo, edad en años cumplidos en la columna correspondiente al sexo del paciente, domicilio y/o datos que permitan localizar al paciente rápidamente, la fecha del diagnóstico bacteriológico, resultado de la baciloscopía; número exacto de bacilos cuando sean de 1 a 9, (+), (++) , (+++) o del cultivo y la localidad de la unidad que solicitó el examen.

**Sólo debe anotarse una sola vez cada caso (paciente) descubierto por baciloscopía o cultivo.**

**Elaboró el informe:** Nombre y firma del responsable del área de micobacterias.

**Fecha:** Anotar la fecha en que se elabora el informe.

**Director de la unidad:** Nombre y firma del director de la unidad de salud que informa.





SECRETARIA DE SALUD

Supervisión de Baciloscopías

**“RELACION DE RELECTURA DE FROTIS”**

Nivel de supervisión \_\_\_\_\_

Entidad federativa \_\_\_\_\_ Laboratorio \_\_\_\_\_

Periodo de Supervisión \_\_\_\_\_

RELECTURAS POSITIVAS

Diagnóstico ( )

Control ( )

No. Pro- gre- sivo	No. de Lab.	NOMBRE COMPLETO	ELABORACION DEL FROTIS Y LECTURA						
			RESULTADO DEL LAB. SUPERVISADO	RESULTADO DEL SUPERVISOR	EXTENDIDO		TINCION		
					ADEC.	INAD.	ADEC.	INAD.	
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									

RELECTURAS NEGATIVAS

Diagnóstico ( )

Control ( )

No. Progre-sivo	No. de Lab.	NOMBRE COMPLETO	ELABORACION DEL FROTIS Y LECTURA						
			RESULTADO DEL LAB. SUPERVISADO	RESULTADO DEL SUPERVISOR	EXTENDIDO		TINCION		
					ADEC.	INAD.	ADEC.	INAD.	
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									

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL SUPERVISOR

\_\_\_\_\_  
FECHA

## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DEL FORMATO RELACION DE RELECTURA DE FROTIS

Este formato debe ser llenado, en las columnas que correspondan, por el laboratorio que va a ser supervisado y debe ser enviado junto con las láminas que serán releídas. Este formato sirve también para que el laboratorio supervisor registre los resultados.

**Nivel de supervisión:** Anotar Estatal si las laminillas serán supervisadas en el Laboratorio Estatal, o Nacional si la supervisión será efectuada por el I.n.D.R.E.

**Entidad federativa:** Anotar el nombre del Estado al que corresponde el laboratorio supervisado.

**Laboratorio:** Anotar tipo y localidad del laboratorio que se supervisa.

**Período de supervisión:** Anotar el período supervisado, mes o meses. ( se recomienda que no sea superior a dos meses )

### Anverso.

**Relecturas positivas:** Marcar con una “x” si las laminillas corresponden a diagnóstico y/o control.

**No. de lab. :** Anotar el número de laminilla (muestra). La rotulación de las laminillas debe estar legible.

**Nombre completo:** Anotar el nombre, apellidos paterno y materno del paciente que corresponda con el no. de laboratorio.

**Resultado del lab. supervisado:** Anotar el resultado obtenido por el laboratorio que se supervisa con número de cruces; (+), (++) o (+++).

**Nota:** Las columnas de “resultado del supervisor”, “extendido” y “tinción” serán llenadas únicamente por el laboratorio que supervisa.

### Reverso.

**Relecturas negativas:** Marcar con una “x” si las laminillas corresponden a diagnóstico y/o control.

**No. de lab. :** Anotar el número de laminilla.

**Nombre completo:** Anotar el nombre, apellidos paterno y materno del paciente que corresponda con el no. de laboratorio.

**Resultado del lab. supervisado:** Anotar el resultado negativo con el símbolo (-) entre paréntesis.





## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DEL CONCENTRADO ESTATAL DE INFORMES DE MICROSCOPIA Y CULTIVO

Este formato debe ser llenado por el Laboratorio Estatal concentrando los informes mensuales que le han enviado los laboratorios de nivel local, agregando la información de las actividades del propio Laboratorio Estatal realizadas en el mes. Debe ser enviado mensualmente al InDRE (Depto. de Micobacterias).

**Estado:** Anotar el nombre de la entidad federativa que elabora el concentrado.

**Mes:** Anotar el nombre del mes que se concentra la información.

**Año:** Anotar el año que corresponda a la información concentrada.

**Jurisdicciones:** Anotar en orden el nombre de la Jurisdicción a la que pertenecen los laboratorios locales informantes.

**Laboratorios locales:** Anotar el tipo y localidad de los laboratorios que conforman la red en el estado, incluir al final al Laboratorio Estatal. Se anotará un laboratorio en cada renglón.

**Días laborados:** Registrar el total de los días laborados por cada laboratorio.

**Tosedores examinados:** Anotar el número de tosedores que se examinaron en cada laboratorio en el periodo. Se obtiene contando todas las baciloscopías las. de diagnóstico.

### DIAGNOSTICO: CALIDAD

**Muestras de diagnóstico recibidas:** Anotar el número de **muestras de diagnóstico** recibidas en el mes, no incluir las de control de tratamiento y no incluir los frotis elaborados y fijados fuera del laboratorio.

**Muestras de diagnóstico adecuadas:** Anotar el número de **muestras de diagnóstico** adecuadas recibidas en el mes, no incluir las de control de tratamiento.

**Frotis de diagnóstico recibidos:** Si en su estado se acostumbra hacer frotis en campo o en unidades de salud sin laboratorio, que son fijados y enviados al laboratorio para su tinción y lectura, anotar el número de frotis de diagnóstico fijados recibidos en el mes. Incluir sólo los de diagnóstico, no incluir los de control de tratamiento.

**Frotis de diagnóstico adecuados:** Anotar el número de frotis de diagnóstico (los elaborados y fijados fuera del laboratorio) adecuados recibidos en el mes, no incluir los de control de tratamiento.

### BACILOSCOPIAS

**Baciloscopías de diagnóstico positivas:** Anotar el número de baciloscopías positivas de diagnóstico procesadas en el mes.

**Baciloscopías de diagnóstico negativas:** Anotar el número de baciloscopías negativas de diagnóstico procesadas en el mes.

**Baciloscopías de control positivas:** Anotar el número de baciloscopías de control de tratamiento positivas procesadas en el mes.

**Baciloscopías de control negativas:** Anotar el número de baciloscopías de control de tratamiento negativas procesadas en el mes.

**Total:** Anotar la suma de las baciloscopías de diagnóstico y de control de tratamiento realizadas en el mes por laboratorio.

### CULTIVOS

**Cultivos de diagnóstico positivos:** Anotar el número de cultivos de diagnóstico positivos en el mes. Cultivos de diagnóstico son los realizados para confirmar una TB que no es posible confirmar con baciloscopía. Ej. tuberculosis extrapulmonares, en niños, etc.

**Cultivos de diagnóstico negativos:** Anotar el número de cultivos de diagnóstico negativos en el mes.

**Cultivos de diagnóstico contaminados:** Anotar el número de cultivos de diagnóstico contaminados en el mes.

**Cultivos de control positivos:** Anotar el número de cultivos de control positivos en el mes. Se les llama cultivos de control a los realizados durante el control de tratamiento del paciente cuando éste persiste positivo a la baciloscopía entre el 3º y 4º mes o al final del tratamiento para confirmar su fracaso.

**Cultivos de control negativos:** Anotar el número de cultivos de control negativos en el mes.

**Cultivos de control contaminados:** Anotar el número de cultivos de control contaminados en el mes.

**Total:** Anotar la suma del total de cultivos de diagnóstico y de control realizados en el mes.

### CONTROL DE CALIDAD

**Número de Bk releídas en el LESP. Positivas:** Número de láminas positivas que relejó el LESP (que deben ser todas las positivas que produjo el laboratorio local).

**Número de Bk releídas en el LESP. Negativas:** Número de láminas negativas que relejó el LESP (que deben ser el 10% de todas las negativas que produjo el laboratorio local).

**Número de errores detectados. F (+) falsos positivos:** Número de errores registrados como positivos y que fueron realmente negativos.

**Número de errores detectados. F (-) falsos negativos:** Número de errores registrados como negativos y que fueron realmente positivos.

**Número de casos confirmados:** Anotar el número de casos confirmados por el laboratorio.

**Totales:** Sumar y registrar las cantidades totales de las anotaciones hechas en cada columna.

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory Manual for Acid-fast Microscopy. 2nd ed. US Department of Health, Education and Welfare, Smithwick, USA, 1979.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Preventing the Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in Health-Care Facilities. US Department of Health and Human Services. MMWR 1994., 43 (No.RR-13). USA 1994.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th Ed. US Department of Health and Human Services. USA 1999.
4. Centro Panamericano de Zoonosis. Manual de Normas y Procedimientos Técnicos para la Bacteriología de la Tuberculosis, Nota Técnica No. 26. Buenos Aires: 1984.
5. Centro Panamericano de Zoonosis. Bacteriología de la Tuberculosis. La Organización de los Laboratorios. Medidas de Bioseguridad, Nota Técnica No. 29. Buenos Aires: 1987.
6. Collins CH, Grange JM, Yates MD. Tuberculosis Bacteriology. 2nd ed, Organization and Practice. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997.
7. Enarson DA, Rieder HL, Arnadottir T, Trébuq A. Tuberculosis Guide for Low Income Countries. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD). Paris. 1996.
8. IUATLD. Technical Guide for Sputum Examination for Tuberculosis by Direct Microscopy. 2a Ed. Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Paris. 2000.
9. Koeman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, fourth ed. Philadelphia: JB Lippincott 1992, pp 303-349
10. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plorde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. Reviews of Infectious Diseases, 1984; 6(2): 214-222.
11. Ministry of Health and Family Welfare, India. Manual for Laboratory Technicians. Revised National Tuberculosis Control Programme (RNTCP).
12. Central TB Division, Directorate General of Health Services, New Delhi, September 1997.
13. Ministry of Health and Welfare, Bangladesh. Technical guide for sputum examination for tuberculosis by direct microscopy. TB and Leprosy Control Services, National Tuberculosis Programme, Dhaka, Bangladesh, May. 1993.
14. Mitchison DA. Examination of sputum by smear and culture in casefinding. Bull Int Union Tuberculosis. 1968; 41: 139-147.
15. PAHO/WHO Advisory Committee on Tuberculosis Bacteriology. Laboratory Services in Tuberculosis Control. Part 1 Organization and Management .World Health Organization. Geneva, Switzerland. 1998.
16. PAHO/WHO Advisory Committee on Tuberculosis Bacteriology. Laboratory Services in tuberculosis Control. Part II Microscopy. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 1998.

17. Pollak L. Influencia del transporte y almacenamiento a temperatura ambiente de las muestras de esputo sobre el resultado del cultivo de *M. tuberculosis*. II Curso Regional de Bacteriología de la tuberculosis. Caracas, Ven. 1968.
18. Research Institute of Tuberculosis, Japan. TB microscopy. Japan International Cooperation Agency. The Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-tuberculosis Association, Abril 1998.
19. Rieder HL, Chonde TM, Myking H et al. The Public Health Service National Tuberculosis Reference Laboratory and the National Laboratory Network. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 1998.
20. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-0017-SSA2-1994 para la Vigilancia Epidemiológica. Diario Oficial de la Federación, 11 de octubre de 1999.
21. Secretaría de Salud. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-1993, Para la prevención y control de la tuberculosis en la atención primaria a la salud. Diario Oficial de la Federación, 31 de octubre del 2000.
22. Secretaría de Salud. Tuberculosis. Manual de Procedimientos. Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis. México DF, 1999.
23. Toman K. Sensitivity, Specificity and predictive value of diagnostic tests. Bull Int Union Tuberc 1979; 54(3-4) 275-276.
24. Toman K. Tuberculosis. Detección de casos y quimioterapia. Preguntas y Respuestas. Publicación Científica No. 392. Washington, DC: OPS/OMS, 1980.
25. Urbanczik R. Present position of microscopy and culture in diagnostic mycobacteriology. Zbl Bakt Hyg A. 1985; 260: 81-87.