ORGANISMO ANDINO DE SALUD - CONVENIO HIPÓLITO UNANUE

PROGRAMA "FORTALECIMIENTO DE LA RED DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS EN LA REGIÓN DE LAS AMÉRICAS"

MANUAL

PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS



PARTE 4: Manual de procedimientos de evaluación externa de calidad de los métodos bacteriológicos aplicados al diagnóstico y control de tratamiento de la tuberculosis

Organización Panamericana de la Salud
Organización Mundial de la Salud
OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas
SECRETARÍA EJECUTIVA COMISCA
CONSEJO DE MINISTROS DE SALUD DE CENTROAMÉRICA Y REPÚBLICA DOMINICANA
SICA Sistema de la Integración Centroamericana

MANUAL

PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS

Catalogación realizada por el Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue

MANUAL PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS. PARTE 4: MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD DE LOS MÉTODOS BACTERIOLÓGICOS APLICADOS AL DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE TRATAMIENTO DE TUBERCULOSIS/ Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas" -- Lima: ORAS - CONHU; 2019. 313 p.; ilus, tab.
DIAGNÓSTICO/ TUBERCULOSIS/ LABORATORIOS/EVALUACIÓN EXTERNA/CALIDAD

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú No. 2019-02049

Redacción
Beatriz Graciela López, Departamento Bacteriología, INEI, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

María Susana Imaz, Laboratorio de Tuberculosis, INER Emilio Coni, Centro Colaborador OPS/OMS, Santa Fe, Argentina.

Revisión técnica
Miembros del Grupo de Trabajo Regional de Laboratorios de Tuberculosis

Fabiola Arias, Sección Micobacterias, Instituto de Salud Pública de Chile, Laboratorio Supranacional, Santiago de Chile, Chile.
Lucia Barrera, Consultora independiente.
Maria Alice da Silva Telles, Consultora independiente.
Lucilaine Ferrazoli, Núcleo de Tuberculosis y Micobacteriosis, Instituto Adolfo Lutz, San Pablo, Brasil.

Consultor
Eddy Valencia Torres. Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias, INS. Lima, Perú.

Coordinador Laboratorios de Tuberculosis, OPS/OMS
Ernesto Montoro.

Este manual tiene por objeto servir como lineamiento para establecer o mejorar la evaluación externa de la calidad de los métodos bacteriológicos aplicados al diagnóstico y control de tratamiento de la tuberculosis como parte de los esfuerzos generales de Mejora de la Calidad de los laboratorios de tuberculosis.

ORGANISMO ANDINO DE SALUD – CONVENIO HIPÓLITO UNANUE, 2019

Av. Paseo de la República Nº 3832, Lima 27 – Perú
Telf.: (00 51-1) 422-6862 / 611 3700
http://www.orasconhu.org
contacto@conhu.org.pe
Tiraje: 60 ejemplares
Diseñarte, S.A de C.V
Avenida la Capilla #331, Colonia San Benito, San Salvador. / Teléfono: (+503) 25108500
Primera Edición, febrero 2019

Esta publicación se enmarca dentro de la ejecución del Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas" que tiene como Receptor Principal al Organismo Andino de Salud – Convenio Hipólito Unanue (ORAS - CONHU); y como Subreceptores a la Secretaría Ejecutiva del Consejo de Ministros de Salud de Centroamérica y República Dominicana (SE COMISCA) y a la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS).

El contenido de este documento puede ser reseñado, resumido o traducido, total o parcialmente sin autorización previa, con la condición de citar específicamente la fuente y no ser usado con fines comerciales.

Derechos reservados conforme a Ley.

ÍNDICE

Manual de procedimientos de evaluación externa de calidad de los métodos bacteriológicos aplicados al diagnóstico y control de tratamiento de la tuberculosis

Abreviaturas y acrónimos 5
Aseguramiento de la calidad 6
Componentes del programa de aseguramiento de la calidad
Control de calidad interno 9
Evaluación externa de la calidad 9
Monitoreo de indicadores de desempeño 12
Mejoramiento continuo 13
Evaluación externa de la calidad directa
Visita de asistencia técnica 14
Evaluación externa de la calidad indirecta de baciloscopías
Relectura de láminas de rutina de los laboratorios periféricos (Supervisión Periferia-Centro) 20
Prueba de aptitud de lecturas de baciloscopías (Supervisión Centro-Periferia) 50
Evaluación externa de la calidad indirecta del cultivo
Análisis de indicadores de la calidad del cultivo 60
Calidad del medio de cultivo sólido y líquido 70
Evaluación externa de la calidad indirecta de la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* y pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis
Prueba de aptitud de pruebas de sensibilidad fenotípicas 79
Prueba de aptitud de pruebas de sensibilidad genotípicas comerciales 87
Sistema automatizado cerrado de extracción y amplificación de ADN en tiempo real (Xpert) para la detección de M. tuberculosis y su resistencia a rifampicina
Apoyo a la verificación del método 88
Control de calidad 90
Sistema abierto de amplificación e hibridación reversa (LIPA) para la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida o a drogas antituberculosis de segunda línea
Apoyo a la verificación 96
Control de calidad 99
Evaluación externa de la calidad indirecta
Verificación a ciegas 105
Bibliografía 106
Anexos 109
Anexo A.1 Guía para visita técnica (baciloscopía y Xpert) 110
Anexo A.2 Guía para visita técnica (cultivo e identificación de CMTB) 132

Anexo A.3 Guía para visita técnica (prueba de sensibilidad)_____ **164**
Anexo B, C Evaluación externa de calidad indirecta de baciloscopía_____ **200**
Anexo D Evaluación externa de calidad indirecta de cultivo _____ **246**
Anexo E, F, G Evaluación externa de calidad indirecta de pruebas de sensibilidad_____ **273**

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADN Acido desoxirribonucleico
Ak Amikacina
BAAR Bacilo ácido-alcohol resistente
EEC Evaluación externa de calidad
BK Baciloscopía
CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute
Cm Capreomicina
CSB Cabina de seguridad biológica tipo II
EC Error de cuantificación
EMB Etambutol
FL-LPA Ensayo con sondas en tiras para determinación de sensibilidad a drogas de primera línea (INH y RIF)
FNA Falso negativo alto
FPA Falso positivo alto
FNB Falso negativo bajo
FPB Falso positivo bajo
Xpert GeneXpert MTB/RIF
INH Isoniacida
Km Kanamicina
LIPA Ensayos con sondas en tiras (de las siglas en inglés “Line probe assays”)
LNR Laboratorio Nacional de Referencia
LR Laboratorio de Referencia
LSN Laboratorio Supranacional
MNT Micobacteria no tuberculosa
PNT Programa Nacional de Tuberculosis
POE Procedimiento operativo estándar
RIF Rifampicina
FQN Fluoroquinolona
SR Sintomáticos respiratorios
SL-LPA Ensayo con sondas en tiras para determinación de sensibilidad a drogas de segunda línea
TB Tuberculosis
UFC Unidades formadoras de colonias
VIH Virus de la inmunodeficiencia humana
ZN Ziehl Neelsen

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Toda actividad del Programa Nacional de Tuberculosis (PNT) debe tener tres características: **cobertura, permanencia y calidad técnica** y éstas, se logran sólo si se **integran las actividades** en los servicios generales de salud en forma **organizada.** El éxito se basa en la aceptación de los integrantes del equipo de salud, de su responsabilidad frente a la comunidad y en el sostén en el tiempo de esta motivación.

La calidad en el laboratorio no es resultado sólo de factores técnicos (idoneidad, buenos reactivos, métodos y equipos precisos, normalización, buen criterio para la aplicación de métodos e interpretación de resultados), **sino también de factores administrativos** (organización, sistematización de procedimientos, disponibilidad de suministros, mantenimiento de equipos, registros y ambiente apropiado, entre otros). **El sistema de gestión de calidad observa directa o indirectamente todos los factores que inciden en la calidad de cada proceso en su fase preanalítica, analítica y postanalítica.**

El establecimiento de un sistema de gestión de calidad requiere una secuencia de actividades: **planificación, evaluación de la situación e identificación de las falencias a corregir en forma prioritaria, establecimiento de un programa de reentrenamiento y soporte técnico y/o administrativo diseñado para corregir esas falencias y, por último, medición del impacto del sistema.** Los resultados de cada secuencia de actividades orientarán el diseño de un nuevo ciclo. Es, por lo tanto, **un proceso interactivo.**

"El aseguramiento de la calidad es la parte del sistema de gestión destinado a brindar confianza en que una organización cumple con los requisitos de calidad" [CLSI GP26-A4]

"Engloba una serie de actividades que permiten a los laboratorios alcanzar y mantener altos niveles de precisión y competencia a pesar de los cambios en los métodos de prueba y el volumen de muestras ensayadas". [www.cdc.gov/labstandards]

Nota: El CLSI es una organización sin fines de lucro que promueve el desarrollo y uso voluntarios de guías y estándares en el área del cuidado de la salud. Sus miembros pertenecen a organizaciones reconocidas internacionalmente. Entre sus múltiples acciones es miembro de la organización internacional de estandarización, responsable de las normas de calidad ISO

En otras palabras, **el aseguramiento de la calidad es el conjunto de actividades destinadas a evaluar el trabajo para la medición de la calidad de un producto (en nuestro caso llamado diagnóstico)**, de manera tal de detectar la presencia de errores en el desarrollo del producto en sí mismo e instaurar medidas de corrección donde y cuando fueren necesarias para mantener, en este caso, un diagnóstico de certeza que mejore o contribuya a optimizar el manejo clínico del paciente e indirectamente aumentar la efectividad de la vigilancia epidemiológica. Forma parte del **SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD**, el cual se encarga de observar las actividades en su totalidad, de manera tal de asegurar la calidad de todos los procesos del laboratorio.

El resultado de una evaluación puntual dice, en general, muy poco. Puede ser sólo reflejo de un acierto o un error fortuito, de un momento de organización o desorganización del laboratorio, del buen funcionamiento o desperfecto transitorio de un equipo. Expresado como el resultado de un examen de un estudiante; mucho más significativo son el promedio y evolución de resultados a lo largo de su carrera. Por tal motivo, el control o evaluación de calidad técnica **debe producir resultados periódicos, que permitan evaluar la tendencia a lo largo del tiempo de los parámetros que califican la calidad de trabajo.**

El proceso **debe ser abierto y comprensible para todos** los laboratorios de todos los niveles que integran la red. El sistema debe ser permeable a la retroalimentación, de manera que todos los participantes puedan contribuir a que resulte de utilidad, proponiendo mejoras o modificaciones que deberán ser consideradas por el conjunto.

El aseguramiento de la Calidad

es, básicamente, un proceso educativo y motivador.

Está destinado a mantener y optimizar la calidad técnica y operativa del diagnóstico en sí mismo.

Resulta, finalmente, en mayor eficacia para asistir al paciente con TB y para controlar la patología

Tiende a fortalecer los conocimientos, desarrollar capacidad técnica y estimular una actitud responsable frente al trabajo. De ninguna manera debe ser confundido con examen o inspección.

Entre los objetivos de todo PNT, bajo la Estrategia "Fin de la tuberculosis", está el de alcanzar el acceso universal a la atención de alta calidad para todos los pacientes con TB con la meta de terminar la epidemia de TB para el 2035. Asegurar la detección temprana de casos mediante pruebas bacteriológicas de calidad garantizada sigue siendo el paso necesario para la curación. Por lo tanto, una red de laboratorios de TB que brinde diagnósticos con un alto grado de calidad es fundamental para la eliminación de la enfermedad.

La necesidad de asegurar buena calidad es cada vez más reconocida, **y los programas tienen cada vez más adherentes voluntarios, especialmente porque crece la conciencia de que los errores se producen aún en laboratorios con excelente desempeño.**

El control conduce a:

- **Identificar los errores más frecuentes**
- **Describir los procedimientos y controles que minimizan la probabilidad de producir falsos resultados o rendimiento subóptimo de los métodos bacteriológicos**
- **Elevar la calidad del diagnóstico**

Diferentes estrategias han sido propuestas para el control de métodos, pueden ser combinadas o utilizadas por separado en distintos momentos o áreas, según las posibilidades que existan y la información que se desee obtener.

COMPONENTES DEL PROGRAMA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Los elementos considerados claves de un programa de aseguramiento de la calidad son:

a) Control de calidad interno
b) Evaluación externa de la calidad
c) Monitoreo de indicadores de desempeño
d) Mejoramiento continuo

a) Control de calidad interno:

Es responsabilidad de cada uno de los laboratorios que ejecutan técnicas. En particular, el responsable del laboratorio debe establecer en la rutina de trabajo un sistema de controles regulares y el registro de los resultados que arrojan los controles, reservándose para sí mismo la revisión periódica de puntos críticos y el monitoreo de resultados. Está incorporado a cada POE e incluye

- el control de
  - materiales, insumos, equipos
  - procedimientos
  - registros y trazabilidad
  - la elaboración y entrega de los informes
- el monitoreo de los resultados
- las medidas correctivas a aplicar cuando la imprecisión del resultado excede los límites considerados aceptables

Su objetivo es evitar y/o corregir de inmediato errores individuales cometidos con muestras de pacientes.

b) Evaluación externa de la calidad (EEC)

Es responsabilidad de los laboratorios de referencia distrital, nacional e internacional según sea la organización de la red de laboratorios del país y el laboratorio a ser evaluado.
La EEC constituye un soporte esencial para la acreditación y/o certificación de un laboratorio o al menos debe ser considerado un punto importante para cumplir con las normas mínimas que permitan garantizar que las pruebas realizadas en un laboratorio sean precisas y confiables.

"El término EEC se utiliza para describir un método que permite comparar los análisis de un laboratorio con una fuente externa al mismo. Esta comparación puede realizarse con respecto al rendimiento de un grupo de laboratorios externos o al rendimiento de un laboratorio de referencia". (Fuente: Sistema de gestión de la calidad en el laboratorio: manual. I. Organización Mundial de la Salud 2016)

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

Los laboratorios supervisores deben poseer conocimientos sólidos y actualizados, no sólo sobre bacteriología de la TB, sino también sobre los aspectos técnicos y operacionales del PNT, y experiencia en la especialidad y terreno. El laboratorio supervisor debe participar de un programa de EEC para las técnicas que evalúa, ser reconocido como laboratorio de referencia y haber demostrado capacidad para apoyar a otros laboratorios en la resolución de problemas técnicos, en capacitación de personal y en suministro de insumos.

Existen empresas u organizaciones que proveen materiales para la EEC de las técnicas de microscopía, cultivo, identificación y prueba de sensibilidad. En el caso de utilizar estos materiales, es importante asegurar que la empresa u organización que los provee posee competencia en la realización de pruebas de aptitud y en el tipo de prueba que está evaluando.

La EEC puede ser realizada en forma
Directa
Visita de asistencia técnica
Indirecta
Prueba de aptitud
Verificación a ciegas

Visita de asistencia técnica:

Consiste en la visita por parte de personal de nivel nacional, regional o distrital a los laboratorios de la red para observar, en el lugar, las condiciones de trabajo y los procedimientos técnicos y operativos. La actividad debe planificarse a intervalos regulares e incluye la propuesta de correcciones, en el caso en que sean necesarias, en acuerdo con las características de cada servicio. Se trabaja con una guía de ítems a verificar, preguntas a responder *in situ* y entrevistas con autoridades de distintos niveles. La elaboración de un informe de lo/s laboratorio/s visitado/s con fortalezas y debilidades a superar es un instrumento fundamental para estimular los cambios de conducta y/o de las condiciones

de infraestructura/bioseguridad en aquellos servicios en que se hubieran detectado deficiencias.

Estas visitas permiten realizar diagnósticos de situación en las primeras etapas, proporcionar capacitación, motivación y apoyo al personal, especialmente en entornos periféricos y establecer relaciones sólidas con las personas, lo que alienta la notificación precoz de cualquier problema, permitiendo una rápida solución de los mismos. Son especialmente críticas durante las primeras etapas de la implementación de una nueva tecnología.

Prueba o ensayo de aptitud:

Consiste en la comparación objetiva y retrospectiva de los resultados obtenidos en diferentes laboratorios, mediante una experiencia coordinada por un ente externo, tal como un laboratorio de referencia regional, nacional o internacional. Se define como:

> **"Un programa en el que se envían periódicamente muestras múltiples a los miembros de un grupo de laboratorios para su análisis y / o identificación, en el que se comparan los resultados de cada laboratorio con los de otros laboratorios del grupo y / o con un valor asignado" [CLSI GP27-A2]**

Comprueba los procesos claves preanalíticos, analíticos y postanalíticos. No mide el rendimiento de rutina de un laboratorio, pero puede identificar a los laboratorios con mayores deficiencias. Se recomienda por lo menos una vez al año.

Existe cierto grado de inseguridad con relación a si el análisis de un panel de muestras / frotis / cepas como los que se emplean para este tipo de control de calidad, es una herramienta que permite conocer si se está produciendo "el resultado más preciso". Por este motivo, los paneles deben ser diseñados para que puedan identificar los errores frecuentes y graves que comprometan la precisión de los resultados. El resultado de algún ejemplar del panel puede no ser el esperado, los bacilos de una muestra pueden agrumarse a pesar del esfuerzo invertido por homogeneizarlos, pueden decolorarse en un frotis, o pueden perder viabilidad, y las cepas pueden mutar o perder algunos clones con repiques sucesivos. Cada vez se comprende más que "el mejor resultado" de un estudio realizado sobre material biológico es el resultado "consenso" de varios laboratorios que tengan experiencia y hayan demostrado a lo largo del tiempo buena calidad de trabajo.

La prueba de aptitud requiere del trabajo conjunto de todos los integrantes de la red, y es el aporte conjunto el que permite evaluar la calidad de trabajo. Los resultados se monitorean para analizar las tendencias en el tiempo. La retroalimentación, con respecto a los resultados de las pruebas de aptitud, así como las recomendaciones propuestas, deben ser comunicadas en forma rápida al personal supervisado de los laboratorios para la toma inmediata de acciones correctivas.

Verificación a ciegas

La comprobación cegada, generalmente se realiza con el envío de material desde la periferia para que sea reensayado por al nivel de referencia (laboratorio regional o nacional) y comparados los resultados del laboratorio evaluado con los del evaluador. Se aplica como parte de la EEC de la baciloscopía (BK) con el envío de láminas para la relectura y será visto en detalle en la evaluación externa de esta técnica.

Además, este componente puede ser implementado para otras metodologías diagnósticas como la identificación o pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis fenotípicas o moleculares mediante el envío de algunos de los aislamientos al laboratorio de referencia para que sea investigado a ciegas. En general este tipo de evaluación sirve para complementar o suplantar, sólo en casos excepcionales, las pruebas de aptitud.

c) Monitoreo de indicadores de desempeño

Todos los laboratorios deben asegurarse de que todas las pruebas que realizan sean sometidas a la EEC mediante la participación en programas nacionales o internacionales formales. Además, el monitoreo de desempeño usando indicadores de calidad de laboratorio, también conocidos como indicadores de desempeño, es una manera efectiva de conocer la calidad de los resultados de laboratorio e identificar áreas de mejora. Son útiles para la evaluación interna y externa, dependiendo de que la evaluación sea realizada por el propio laboratorio comparando sus resultados con losesperados (control de calidad interno), o de que la evaluación sea realizada por un laboratorio externo y los resultados sean analizados en el contexto del resto de los laboratorios de la red (EEC). Para implementar este tipo de control, todos los laboratorios deben recopilar y analizar datos de pruebas en forma periódica, utilizando un formato estandarizado para la documentación de los mismos. Se deben fijar valores esperados para todos los indicadores monitoreados e investigar cualquier cambio inexplicable en los mismos, como el aumento de las tasas de error, un cambio en la tasa de positividad de la detección de *Mycobacterium tuberculosis* o la tasa de resistencia a RIF, o un cambio significativo en la cantidad de las pruebas realizadas. Deben ser revisados por el gerente del laboratorio y siempre deben estar vinculados a acciones correctivas si se observan resultados o tendencias inesperados.

Las pruebas o ensayos de aptitud, junto con el monitoreo de los indicadores de calidad, complementan a la evaluación que se realiza mediante un programa regular de visitas técnicas. Y permiten evaluar la calidad, al menos en forma parcial, cuando no se disponga de recursos humanos o financieros suficientes para implementar ese programa con suficiente cobertura y frecuencia.

d) Mejoramiento continuo

El ciclo incluye cuatro pasos: planificar, realizar, verificar y accionar. Estos pasos deben repetirse regularmente de manera tal de asegurar la mejora continua de cada proceso generado en el laboratorio

Involucra el continuo monitoreo de los resultados arrojados por los distintos métodos empleados para la evaluación de la calidad con el fin de identificar aspectos que deben ser mejorados, la identificación de no conformidades por los miembros del personal o auditorías que surjan del análisis de los datos y el desarrollo de soluciones creativas a los problemas identificados.

El mejoramiento continuo es el proceso más difícil de implementar de forma rutinaria y sistemática, pero es una parte esencial de la implementación de servicios de calidad.

EVALUACION EXTERNA DE CALIDAD DIRECTA

Visita de asistencia técnica

Es el mejor método para observar las condiciones de un laboratorio y de las prácticas que se realizan en él. Es el componente esencial del Control de Calidad Externo. Se deben considerar las normas del programa establecidas para cada una de las actividades operativas y de cada país.

Las características del supervisor deben ser tenidas en cuenta a la hora de seleccionar y capacitar al personal que sea responsable de esta tarea. Debe tener:

- conocimiento sólido y actualizado de técnicas y operaciones del laboratorio, de los objetivos y estrategias del PNT, de la situación epidemiológica y operativa de la región, de las características de la población y de la organización del sistema de salud;
- experiencia en terreno: conocer las condiciones en las que se ha de desempeñar quien deba realizar el trabajo en los Servicios de Salud e identificar situaciones anómalas;
- interés por el trabajo que va a realizar;
- buenas relaciones interpersonales;
- flexibilidad para analizar los problemas y plantear medidas correctivas adecuadas para cada situación, prácticas y factibles de aplicar;
- tiempo disponible y recursos financieros que permitan el pago de la movilidad y viaticos (en el caso en que sea necesario comer y/o pernoctar fuera del domicilio) para desplazarse a los niveles locales.

La supervisión puede surgir de discrepancias o deficiencias técnicas reiteradas en un laboratorio, errores u omisiones importantes y repetidos, detectados por las pruebas de aptitud o la relectura de láminas; también pueden ser programadas para laboratorios que recién implementan una determinada técnica o cuando se incorpora personas recién capacitadas o, simplemente, como parte de una actividad regular y periódica de la red y el PNT.

A fin de optimizar los recursos humanos y materiales necesarios para la realización de esta actividad, y no alterar inesperadamente la rutina de trabajo del laboratorio a visitar, es imprescindible que las visitas se programen con antelación, elaborando un cronograma anual y en lo posible en coincidencia con actividades de supervisión directa del equipo de PNT o de otros equipos de salud o bien de supervisión general de laboratorio.

Procedimientos

Preparacion de las visitas

• Anunciar con anticipación conveniente la visita y sus objetivos para evitar suspicacias o ausencias del personal. Las visitas sorpresivas siempre se confunden con inspección y puede suceder que, si no avisa, las personas a las que se deben entrevistar no hayan ido a trabajar.

• Analizar la información epidemiológica y operativa del área a visitar.

• Analizar la información disponible de los laboratorios a visitar en relación con la bioseguridad, equipamiento, recursos, carga de trabajo e indicadores de desempeño, identificando los puntos críticos que deben ser especialmente observados.

En los centros de salud se debe

• Exponer los objetivos de la visita antes de iniciarla mediante entrevistas con el director o autoridades del establecimiento y cuando corresponda, con el jefe del laboratorio general.

• Contactar con médicos, enfermeras y otros trabajadores de salud del servicio que habitualmente se relacionan con el laboratorio para el diagnóstico o control del tratamiento durante la visita, a fin de conocer las fortalezas y debilidades del laboratorio percibidas por el equipo de salud y fortalecer las relaciones entre el grupo; estas relaciones pueden no ser fluidas y el supervisor ayudar a mejorarlas.

• Conocer la organización, registros y recursos disponibles para la toma de muestras y/o aislamientos (según corresponda) y envío de las mismas al laboratorio, en la institución que se visita y en toda el área de captura en el caso en que recibiera derivaciones de otros centros de salud o laboratorios.

• Visitar el laboratorio y verificar los ítems incluidos en la guía técnica correspondiente, priorizando los que son causa de preocupación y los que no han sido verificados en anteriores visitas. Resolver dudas o preguntas que se manifiesten durante la visita. Registrar las demandas insatisfechas o propuestas que existan en relación con el laboratorio de referencia. Hacer una devolución breve sobre lo observado al equipo de laboratorio involucrado en TB, señalando las fortalezas y las mejoras necesarias y posibles que dependen exclusivamente del laboratorio. Motivar al personal resaltando la importancia y trascendencia que tiene el trabajo diario de cada uno de ellos.

• Realizar, al término de la visita, una reunión informativa corta con las mismas personas entrevistadas al inicio para hacerles conocer lo observado, especialmente los logros que pueda haber obtenido el laboratorio durante el período anterior y las dificultades encontradas que pueden ser solucionadas por las autoridades o en forma conjunta por el equipo de salud. Abogar por y documentar el compromiso de las autoridades para gestionar lo necesario para lograr la mejora.

• Hacer un informe escrito, sucinto, que mencione principalmente las actividades o cambios a los que se hubieran comprometido los laboratoristas y las autoridades durante

la visita y dejar una copia en el laboratorio visitado. También deberá enviarse una copia del mismo al jefe del PNT y/o resumir el estado de situación de un área o de toda la red, identificando los servicios que requieren intervenciones por parte del PNT. Además de ser un recordatorio de lo observado y de lo recomendado, sirve a la coordinación de la red de laboratorios y del Programa para la planificación de las futuras acciones, capacitación, suministro de insumos, próximas supervisiones u otras actividades.

Si, debido a circunstancias especiales, el supervisor no pudiera proporcionar un informe escrito al final de la visita, deberá definir cómo y cuándo proveerá de dicho informe al laboratorio visitado.

Aspectos a observar:

En la institución

• cumplimiento de las metas de localización de sintomáticos respiratorios (SR) y casos y las posibles razones del éxito o la deficiencia;

• control de infecciones en relación con la recolección y transporte de muestras;

• trazabilidad de muestras y resultados del laboratorio;

• demora en la disponibilidad de los resultados de laboratorio.

En el laboratorio

• recursos humanos, suficiencia y capacitación;

• ambiente de trabajo, bioseguridad, existencia y mantenimiento de los equipos (microscopios, equipos de PCR automatizada, centrífugas, estufas, refrigeradores, etc.);

• provisión de insumos y su calidad;

• ejecución de los procedimientos técnicos y el cumplimiento de las normas operativas;

• aspectos técnicos y operacionales de los procedimientos que se realizan para el diagnóstico de TB;

• transporte de muestras y cepas para lab de referencia.

En el anexo A se muestran ejemplos de guías desarrolladas para laboratorios con distinta complejidad técnica, que pueden ser de utilidad para apoyar la actividad de los supervisores durante la visita. Estas guías, que incluyen una lista exhaustiva de todos los elementos operacionales y técnicos que deberían ser observados, pueden ser enviadas con anticipación para que el laboratorio complete al menos parte de la información requerida. El supervisor puede luego verificar la veracidad de lo consignado por el laboratorio, con lo que se agiliza el procedimiento. Esto es particularmente útil cuando se dispone de un tiempo muy limitado para cada visita.

A su vez, pueden ser empleadas como documentación de la visita, a fin de registrar las condiciones actuales y las acciones necesarias para fortalecer el funcionamiento del laboratorio.

Este listado es indicativo y deberá ser adaptado según las necesidades específicas de cada país. Allí está aclarado lo que se considera adecuado en cada ítem para que el supervisor pueda tenerlo presente, pero las preguntas deben ser abiertas, sin develar previamente lo que se considera aceptable para no inducir las respuestas.

Es recomendable no calificar a los técnicos y/o profesionales por puntos; esta metodología genera rechazos hacia el supervisor y la supervisión. Sin embargo, la gerencia de la red de laboratorios de TB debe contar con una herramienta que le permita visualizar rápidamente las evaluaciones realizadas en cada laboratorio de la red, el resultado general (aceptable o no) y los puntos críticos que deben ser solucionados en cada servicio.

EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD INDIRECTA DE BACILOSCOPÍAS

Definiciones básicas

Sensibilidad (relativa a los supervisores): representa el nivel de capacidad esperado de los lectores del laboratorio supervisado para detectar los extendidos positivos, comparado con el de los supervisores.

Especificidad (relativa a los supervisores): representa el nivel de capacidad esperado de los lectores del laboratorio supervisado para detectar los extendidos negativos, comparado con el de los supervisores.

Tasa de positividad: proporción de extendidos positivos entre todas las láminas examinadas en el laboratorio a supervisar (preparadas a partir de muestras de diagnóstico y de control de tratamiento) durante un determinado período de tiempo.

N° total de láminas negativas: número anual de láminas menos el número de láminas positivas procesadas en el laboratorio a supervisar.

Falso positivo alto (FPA): un extendido negativo que es considerado erróneamente como positivo (1+, 2+ o 3+) por el laboratorio supervisado.

Falso negativo alto (FNA): un extendido positivo (1+, 2+ o 3+) que es considerado erróneamente como negativo por el laboratorio supervisado.

Error mayor: incluye los errores falsos positivos altos y falsos negativos altos.

Falso positivo bajo (FPB): un extendido negativo que es considerado erróneamente como positivo (contable) por el laboratorio supervisado.

Falso negativo bajo (FNB): un extendido positivo (contable) que es considerado erróneamente como negativo por el laboratorio supervisado.

Error menor: incluye los errores falsos positivos bajos y falsos negativos bajos.

Errores de cuantificación (EC): diferencia de más de un grado de positividad en la lectura de un extendido positivo entre el laboratorio supervisado y el laboratorio supervisor (contable versus 2+ y 3+ o 1+ versus 3+).

Número de aceptación (d): el número máximo de errores falsos negativos permitidos en la muestra por encima del cual el PNT/LNR ya no puede estar seguro de que el laboratorio supervisado haya conseguido la calidad esperada.

Lote de láminas: conjunto de extendidos (generalmente entre 50 y 100) preparados en el laboratorio de referencia que contienen una cantidad similar predefinida de BAAR y a partir de los cuales se preparan los paneles para las pruebas de aptitud.

Panel de láminas: conjunto de láminas de diferente grado de positividad y negativos que han sido preparadas por el LNR para ser utilizados en las pruebas de aptitud a fin de evaluar la capacidad de los microscopistas de los laboratorios de la red de examinar, informar y eventualmente colorear láminas de baciloscopias.

Extendido de esputo con calidad de muestra adecuada (establecida microscópicamente):

aquel extendido que ha sido calificado microscópicamente como proveniente de una muestra mucopurulenta o mucosa.

Extendido de esputo con calidad de muestra no adecuada (establecido microscópicamente): aquel extendido proveniente de una muestra de esputo en el que se observan en su mayoría células epiteliales (saliva).

Consideraciones generales

La EEC con que se realizan las BK puede efectuarse mediante dos métodos:

- Relectura de láminas de rutina de los laboratorios de la red

Mediante este método el laboratorio supervisor relee una muestra de las láminas de las BK realizadas en la rutina de trabajo por los laboratorios de la red y evalúa la calidad no sólo de la lectura microscópica sino también de otros aspectos técnicos como las características con las que han sido realizados los extendidos, las coloraciones y el tipo de muestras procesadas por los laboratorios en su trabajo rutinario. La observación de estos aspectos técnicos tiene por objeto prevenir posibles errores evitando situaciones en las que se dificulta la lectura microscópica. Dado que este método permite analizar la competencia de un laboratorio en su trabajo rutinario e indirectamente, el desempeño del sistema de salud para lograr la recolección y remisión de muestras de buena calidad, se considera la mejor alternativa para la EEC de las BK. Sin embargo, es también la que requiere mayor inversión de recursos humanos y logísticos para el laboratorio supervisor, por lo que su implementación constituye un verdadero reto para la red de laboratorios.

- Envío de paneles desde el LNR

En general evalúa sólo la calidad en la lectura. Cuando se incorporan extendidos sin colorear también es posible evaluar la calidad de la coloración. No es útil para valorar la calidad del trabajo de rutina del laboratorio.

Cada método tiene distintas ventajas y desventajas, así como diferentes requerimientos de recursos que serán desarrollados en los siguientes apartados de este manual. La elección de cómo implementar la EEC en cada país depende de las características de los laboratorios que conforman la red, de los recursos disponibles, así como de la capacidad de obtener recursos adicionales para apoyar las actividades de EEC. Es probable que, en principio, no se cuente con todos los recursos necesarios para la implementación de los métodos recomendados en este manual en todos los laboratorios de la red. Sin embargo, es aconsejable desarrollar un plan de expansión del programa de EEC con un enfoque “paso a paso”, de modo que, en principio, se empleen los métodos de EEC que las características de la red y los recursos permitan; de ese modo se podrá evidenciar que existen problemas en la calidad de la realización de la BK y justificar la asignación de recursos adicionales necesarios para

expandir las actividades e introducir los procesos de mejora.

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

Relectura de láminas de rutina enviadas desde los laboratorios periféricos (Supervisión Periferia-Centro)

Idealmente este método debería permitir la evaluación del trabajo individual de cada técnico durante un período definido, por lo que la muestra a releer debería ser lo suficientemente grande para alcanzar significación estadística de los resultados para cada uno de los técnicos del laboratorio. Sin embargo, en la práctica esto no es posible, debido a que ocasionaría una gran sobrecarga en el trabajo de los supervisores. Por lo tanto, el muestreo de las láminas a releer generalmente se realiza por laboratorio en relación con el trabajo de un largo período (por ej. un año), y utilizando un método estadístico para la selección de la muestra (la más pequeña posible) que permitirá la identificación de servicios que **"podrían"** estar funcionando por debajo del nivel mínimo fijado por el PNT. Dado que la muestra de extendidos releída es relativamente pequeña, cuando se detecta que un laboratorio tiene calidad deficiente, hay que considerar que este hallazgo deberá preferentemente validarse mediante otras acciones, en la mayoría de los casos, una visita técnica, que permitirá identificar las posibles fuentes de errores que requieren una acción correctiva.

La relectura no pretende confirmar el diagnóstico de los pacientes y tampoco sustituye el control de calidad interno y las visitas regulares.

La relectura es una tarea que requiere de una inversión importante de recursos humanos y logísticos. Debe haber suficiente personal en los niveles intermedios y centrales de la red ya que, si los supervisores están sobrecargados con la relectura de una gran cantidad de láminas para releer y a ello se agregan las láminas de la rutina de trabajo, es probable que cometan más errores en la lectura que los laboratorios de la red que están siendo evaluados. Por lo tanto, cuando la red está integrada por un alto número de laboratorios, la EEC mediante la técnica de relectura debería ser descentralizada, de tal manera que un primer supervisor tuviera a su cargo sólo alrededor de 10-20 laboratorios; claramente el número de laboratorios a su cargo dependerá del tamaño de la muestra por servicio/año que deberá releer y de si estos supervisores tienen dedicación parcial o completa a la actividad de relectura. Así, para poder implementar el método de relectura de una manera organizada y eficiente, se requiere de una red de laboratorios estructurada con funciones y capacidades delimitadas para cada nivel, siguiendo un esquema similar al que se describe a continuación:

Laboratorios periféricos ubicados en centros de salud de atención primarias u hospitales. El personal tiene competencia técnica para realizar BK, generalmente utilizando la coloración de Ziehl-Neelsen (ZN). Deben tener capacidad para

conservar las láminas en forma adecuada y remitirlas al laboratorio supervisor en forma conveniente y según las normas establecidas localmente.

Laboratorios intermedios existentes en hospitales o ciudades más grandes. El personal tiene competencia técnica para realizar microscopía por ZN, y puede tener capacidad para realizar microscopía de fluorescencia si el volumen de trabajo es alto. Los laboratorios intermedios deben ser capaces de planificar y ejecutar la relectura de láminas de los laboratorios de su red regional, recomendar medidas correctivas en los casos en que sean necesarios y asistir a su implementación.

Laboratorio de referencia. El laboratorio de referencia desempeña un papel esencial en la organización y el mantenimiento del método de relectura de láminas y, debe tener la capacidad de proporcionar capacitación en este método, ejecutar la relectura de láminas a los laboratorios intermedios, evaluar el rendimiento de los laboratorios intermedios en su rol de supervisores, recomendar medidas correctivas en los casos en que sean necesarios y asistir a su implementación.

Los siguientes son aspectos esenciales para que la evaluación resulte precisa:

- **El laboratorio supervisor debe tener experiencia** en la realización de BK en las condiciones habituales de trabajo y de acuerdo a normas técnicas y operativas del PNT.
- La muestra de las láminas a releer debe ser **representativa**: el número debe ser suficiente y la selección al azar debe ser realizada por el supervisor.
- La relectura debe ser realizada **a ciegas:** el primer supervisor que relee no debe conocer los resultados del laboratorio a supervisar.
- Los resultados **discordantes deben ser releídos por un segundo supervisor** que trabaje en el mismo laboratorio supervisor o en el laboratorio central.

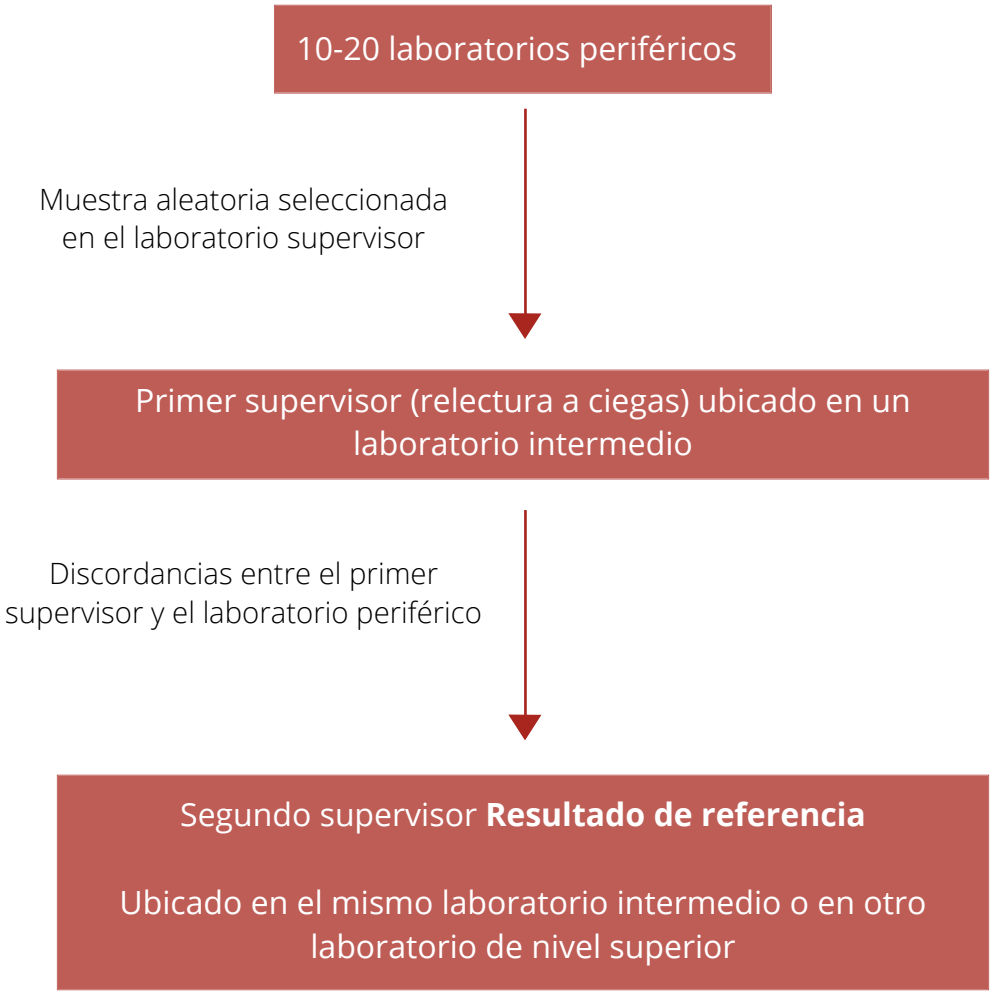
Con respecto a la selección de la muestra **representativa** de láminas a releer, se acostumbraba a solicitar y leer la totalidad de las láminas positivas y el 10% de las negativas de un período. De esta manera se aseguraba que no hubiera resultados falsos positivos. Sin embargo, el número de láminas a releer para controlar la calidad de los laboratorios que efectuaban más de 2000 láminas anuales era innecesariamente alto. Por otra parte, tampoco resulta necesaria la relectura de todos los frotis positivos debido a que la EEC está destinada a evaluar la calidad de los laboratorios, no de los resultados individuales. En 2002, un grupo de expertos internacionales propuso una metodología de muestreo más representativo del trabajo del laboratorio “Muestreo por lotes”, basado en métodos estadísticos, que contemplaba releer el más bajo número de extendidos con un nivel de confianza asegurado (APHL/ CDC/IUATLD/KNCV/RIT/WHO *External quality assessment for AFB Smear microscopy.* Washington, DC: APHL; 2002).

Por otro lado, no hay certeza absoluta de que los resultados del técnico supervisor sean los resultados “verdaderos”, aunque éste tenga mayor experiencia y, lamentablemente no existe un resultado de referencia absoluta o *“gold standard”.* Por lo tanto, **los extendidos**

discordantes entre el primer supervisor y el laboratorio supervisado deben ser leídos por otro técnico del mismo laboratorio o de un nivel superior (que llamaremos segundo supervisor). El resultado de este último lector debe ser considerado definitivo. Aún en laboratorios intermedios o periféricos que presentan buena eficiencia en la lectura, es razonable que un porcentaje de las láminas deban ser reexaminadas por un segundo supervisor a fin de resolver discrepancias. La ausencia total de discordancias en varios centros con extendidos positivos sugeriría que en realidad no se ha leído a ciegas.

En la siguiente figura se observa un modelo descentralizado de organización del método de relectura:

Figura: Ejemplo de organización de la EEC mediante la relectura de láminas



Requisitos y recursos necesarios

- Red de laboratorios estructurada.
- Laboratorio supervisor con experiencia en realización de BK con adecuado número de recursos humanos para el análisis, monitoreo de información, visitas e implementación de medidas correctivas.
- Microscopistas supervisores entrenados en número suficiente. Aunque en general se recomienda que cada supervisor realice la relectura de 10-20 servicios, el número necesario de supervisores dependerá del tamaño de la muestra por servicio/año y de la dedicación a la actividad de relectura de cada supervisor. El desempeño de los supervisores debe ser continuamente evaluado en la rutina de la relectura.
- Microscopios suficientes para el control y para el reentrenamiento, bajo un programa de mantenimiento regular.
- Sistema establecido para determinar el número adecuado de láminas a releer.
- Normas de relectura de láminas que incluyan el análisis de los resultados y la resolución de las discrepancias.
- Sistema de recolección de láminas incluyendo disponibilidad de recursos económicos para envíos de las láminas al laboratorio supervisor.
- Formularios estandarizados para registros e informes de los resultados
- Sistemas de comunicación fluidos.
- El laboratorio de referencia debe disponer de los medios necesarios para implementar las medidas correctivas, incluido el reentrenamiento.
- Sistema establecido para recolectar la información de las actividades de relectura realizada por los laboratorios intermedios hacia el LNR.

Criterios para establecer el número de láminas a releer

El cálculo de las láminas a releer mediante la “técnica de muestreo por lotes” depende de varios factores: la tasa de positividad anual, el número total de láminas negativas leídas en un año en cada laboratorio a supervisar y la sensibilidad que se espera que demuestren los lectores en la lectura de BK. Este tamaño muestral permite detectar aquellos laboratorios con un número de errores que excede el nivel aceptable establecido previamente por el LNR.

Este muestreo resulta muy útil en la evaluación de laboratorios con tasas de positividad superiores al 5% y que realizan más de 1000 láminas anuales. Sin embargo, cuando los niveles de positividad o la carga de trabajo son menores a estos valores, la proporción de láminas a releer puede resultar extremadamente grande y la utilización del método de relectura para la EEC de BK podría resultar inaplicable.
Así, para cada una de las posibles situaciones, en este manual se presentarán distintas opciones que permitan diseñar un plan accesible de EEC de BK de acuerdo a los recursos disponibles y a la carga de trabajo de cada laboratorio.

1- Opción A. Muestreo por lotes de todas las láminas procesadas en el laboratorio

Para realizar el cálculo mediante esta metodología se debe proceder de la siguiente manera:

• Recolectar la información del **número total de extendidos con resultados negativos y positivos registrados durante el último año** (considerar los extendidos preparados a partir de muestras de diagnóstico y control de tratamiento) de todos los laboratorios que realizan BK.

• Calcular la **tasa de positividad** de cada laboratorio mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{número de extendidos positivos}}{\text{(número de extendidos negativos + número de extendidos positivos)}}$$

• Registrar la tasa de positividad de todos los laboratorios a supervisar en una determinada área/región y calcular el promedio de la tasa de positividad de dicha área/región.

• Considerar la utilización del promedio de positividad calculado para el área/región a la que corresponden los laboratorios a supervisar para el cálculo de un tamaño muestral único para todos los laboratorios, si más del 80% de los mismos tienen tasa de positividad similar y analizan un número de extendidos negativos superior a 1000 láminas/año.

• Calcular tamaños muestrales individuales para cada laboratorio si no se puede aplicar el promedio como se expresó en el punto anterior.

• Determinar el tamaño muestral de extendidos a releer anualmente partiendo de la información de la Tabla 1, que ha sido preparada considerando una sensibilidad relativa que alcanzan los lectores del 80% en relación a los supervisores.

Para ello:

- identificar el tamaño muestral en la intersección de la línea del número anual de láminas negativas y la columna de tasa de positividad. Buscar para ambos parámetros los valores más cercanos a los calculados para cada laboratorio o para el promedio, según corresponda, ya que el cálculo de un tamaño muestral exacto arrojaría un resultado muy cercano al calculado con la aproximación.

Por ejemplo, si el número de frotis negativos es cercano a 1000 y la tasa de positividad cercana al 10%, la muestra anual para la relectura corresponde a 96 extendidos/año (Tabla 1)

- agregar a las láminas seleccionadas todas las informadas como positivas por el laboratorio a supervisar en el período en estudio, cuando se supervisa por primera vez un laboratorio o se han observado falsos positivos en controles anteriores.

Tabla 1. Método Periferia-Centro. Número representativo de láminas a releer

Número de extendidos negativos/ por año	Nº de láminas a releer				
	Tasa de positividad 5%	Tasa de positividad 7,5%	Tasa de positividad 10%	Tasa de positividad 13%	Tasa de positividad 15%
200	107	86	72	61	54
500	154	114	89	71	62
1000	180	128	96	76	66
2000	197	135	100	79	68
5000	208	141	103	80	69
50000	216	144	104	82	69

Tabla preparada en base al método de muestreo por lotes para una sensibilidad de 80%, especificidad del 100%, número de errores aceptables (d)=0, y 95% de intervalo de confianza. El tamaño de muestra disminuye proporcionalmente con el incremento de las tasas de extendidos positivos. Genera un tamaño final de muestra que incluye los extendidos positivos y negativos.

Nota: el número aceptable de errores (d) tiene un impacto directo sobre el tamaño de la muestra – más grande es ese número, mayor será el tamaño requerido. Para obtener el más pequeño y eficiente tamaño de muestra se recomienda un número aceptable de errores de cero, **pero esto significa que un simple error debería ser considerado como una advertencia de posibles problemas que deberían ser investigados.** El aumento del número de errores aceptables a 1 permitirá un error, pero, como consecuencia, el tamaño de la muestra aumentará de manera importante. En relación a la sensibilidad, ésta puede ser fijada entre el 75-80% ya que así se reduce el tamaño de la muestra de manera significativa, lo que contribuirá a hacer más realizable la implementación del método de relectura. Aun con esta sensibilidad de 75-80% se pueden detectar errores en muchos laboratorios. El nivel de sensibilidad empleado para el cálculo del número de frotis a seleccionar (tamaño de la muestra) debe ser fijado por los responsables del programa de EEC a nivel nacional/regional, y en ningún caso debería ser confiado al supervisor encargado de seleccionar los frotis ni al personal que realiza la relectura.

- Calcular el número de láminas a releer por cada laboratorio supervisor y cada técnico supervisor

- Determinar el número de extendidos que pueden ser releídos anualmente por los supervisores sin sobrecarga. Tener en cuenta que, para cada técnico, el máximo número de extendidos que se aconseja examinar diariamente no puede ser superior a 20-25 láminas/día para extendidos coloreados por ZN y de 80-100 láminas/día para los coloreados por auramina. Si entre las actividades de la rutina diaria de trabajo del supervisor se encuentra la realización de BK de muestras procesadas en su servicio, a este número máximo de extendidos diarios debe restarse el número de extendidos que lee cada técnico supervisor en su rutina de trabajo.

• Si el número máximo de extendidos que puede releer el laboratorio supervisor es menor al obtenido mediante el muestreo por lotes, reducir el valor de sensibilidad a 75% y recalcular el tamaño muestral empleando la Tabla 2.

Tabla 2. Método Periferia-Centro. Número representativo de láminas a releer

Número de extendidos negativos por año	Nº de láminas a releer				
	Tasa de positividad 5%	Tasa de positividad 7,5%	Tasa de positividad 10%	Tasa de positividad 13%	Tasa de positividad 15%
200	91	71	59	48	42
500	121	89	69	54	47
1000	136	96	73	56	49
2000	145	102	77	59	51
5000	152	104	78	59	51
50000	156	106	79	60	52

Tabla preparada en base al método de muestreo por lotes para una sensibilidad de 75%, especificidad del 100%, número de errores aceptables d = 0, y 95% de intervalo de confianza. El tamaño de muestra disminuye proporcionalmente con el incremento de las tasas de frotis positivos. Genera un tamaño final de muestra que incluye los frotis positivos y negativos

• Si el número de láminas obtenido usando una sensibilidad del 75% aun es mayor al que los supervisores pueden procesar y no se pueden incorporar nuevos lectores/supervisores, utilizar otra metodología de EEC (muestreo estratificado o envío de paneles) hasta tanto puedan conseguirse los recursos necesarios para la evaluación por relectura de láminas mediante el método de muestreo por lotes.

2. Otras opciones para establecer el número de láminas a releer

El muestreo por lotes de todas las láminas procesadas en el laboratorio es plausible de aplicar en la evaluación de laboratorios con tasas de positividad superiores al 4-5% y con una carga de trabajo que sea al menos, igual o mayor a 1000 BK anuales. En áreas en las que la prevalencia de positividad de los extendidos de rutina es moderada-baja o con redes de servicios muy descentralizados (generalmente con predominio de laboratorios con baja carga de trabajo), el tamaño de la muestra requerido podría resultar extremadamente grande, ya que un número importante de servicios requeriría de la relectura de una proporción significativa del volumen láminas que procesan en la rutina de trabajo, y por tanto la utilización de esta metodología para la selección de la muestra de laminas a releer podría resultar no aplicable. Así, para estas situaciones, en este manual se presentarán dos opciones que permiten seleccionar una muestra de láminas para la relectura en laboratorios con <4% de positividad y/o <1000 láminas anuales, a fin de poder diseñar un plan accesible de EEC de BK de acuerdo a los recursos disponibles:

Opción B: Muestreo estratificado de las láminas examinadas para control de tratamiento

Este muestreo está especialmente recomendado para laboratorios con tasas de positividad inferiores a 4% pero cuya carga de trabajo sea moderada/alta (en general mayor a 1000 láminas/anuales), ya que se requiere de la recolección anual de al menos 40 muestras de control de tratamiento para su relectura.

Mediante esta metodología, se muestrean los extendidos de control de tratamiento a los que se suma un número pequeño de extendidos de muestras de diagnóstico. La racionalidad del método está basada en que la tasa de positividad de las muestras de control de tratamiento es en general superior al 10%, dependiendo de la prevalencia de TB multirresistente, la frecuencia con que se realizan los controles (mensual o bimensual) y otros factores como, por ej. la prevalencia de TB-VIH. Considerando que la reproducibilidad de los extendidos de muestras de control de tratamiento (la mayoría de los cuales son positivos (1+) y con escasos bacilos) es menor que la de los extendidos de las muestras de diagnóstico, se estima que es apropiado asumir que los técnicos del laboratorio supervisado pueden alcanzar una sensibilidad relativa del 65% (en contraposición al 75-80% establecido para el “muestreo por lotes de todas las láminas procesadas en el laboratorio” desarrollado en el punto anterior). Teniendo en cuenta la mencionada sensibilidad y una tasa de positividad mayor o igual al 10%, el número total de extendidos de control de tratamiento a releer anualmente (calculado mediante la metodología de muestreo por lotes) resulta sólo de alrededor de 30-40, independientemente del n° de extendidos negativos procesados (Tabla 3).

Tabla 3. Método Periferia-Centro. Número representativo de láminas a reeler de muestras de control de tratamiento

Número de extendidos negativos/ por año	Nº de láminas a releer			
	Tasa de positividad 10%	Tasa de positividad 13%	Tasa de positividad 15%	Tasa de positividad 18%
100	33	28	25	21
200	40	31	27	23
500	44	33	29	24
1000	46	34	29	24
2000	47	36	31	26
5000	48	36	31	26
50000	48	36	31	26

Tabla preparada en base al método de muestreo por lotes para una sensibilidad de 65%, especificidad del 100%, número de errores aceptables d = 0, y 95% de intervalo de confianza.

Utilizando esta metodología, se recomienda leer anualmente unos 50/60 extendidos por laboratorio. Esto comprende alrededor de 40 frotis de control de tratamiento seleccionados aleatoriamente durante el año. A este número de frotis se adiciona unos 10 a 20 extendidos de diagnóstico, aleatoriamente seleccionados durante el año, a fin de evitar sesgos en la lectura de rutina.

En la práctica debe procederse de la siguiente manera:

- Recolectar la muestra de extendidos de control de tratamiento siguiendo las reglas de recolección de muestras que se desarrollarán en el apartado “Selección de las láminas en el laboratorio supervisor” (Sección de Procedimientos) y sólo contando extendidos de control de tratamiento del registro.

- Repetir el mismo procedimiento, una vez realizado el paso anterior, sobre los frotis correspondientes a las muestras de diagnóstico hasta recolectar el número establecido de extendidos (por ej. 10).

Opción C. Combinación de metodologías

Para centros con tasa de positividad <4% que procesen menos de 40 extendidos de control de tratamiento/anuales (generalmente laboratorios con baja carga de trabajo) o en los que por razones operativas no es viable aplicar la metodología estratificada (por ej. no es logísticamente posible muestrear todos los extendidos realizados en un año), se recomienda la combinación de metodologías, mediante:

- la relectura de las láminas correspondientes a un mes de cada semestre de trabajo para laboratorios con menos de 500 láminas/año o un mes de trabajo por año para laboratorios con carga de trabajo de ≥500 láminas/año.

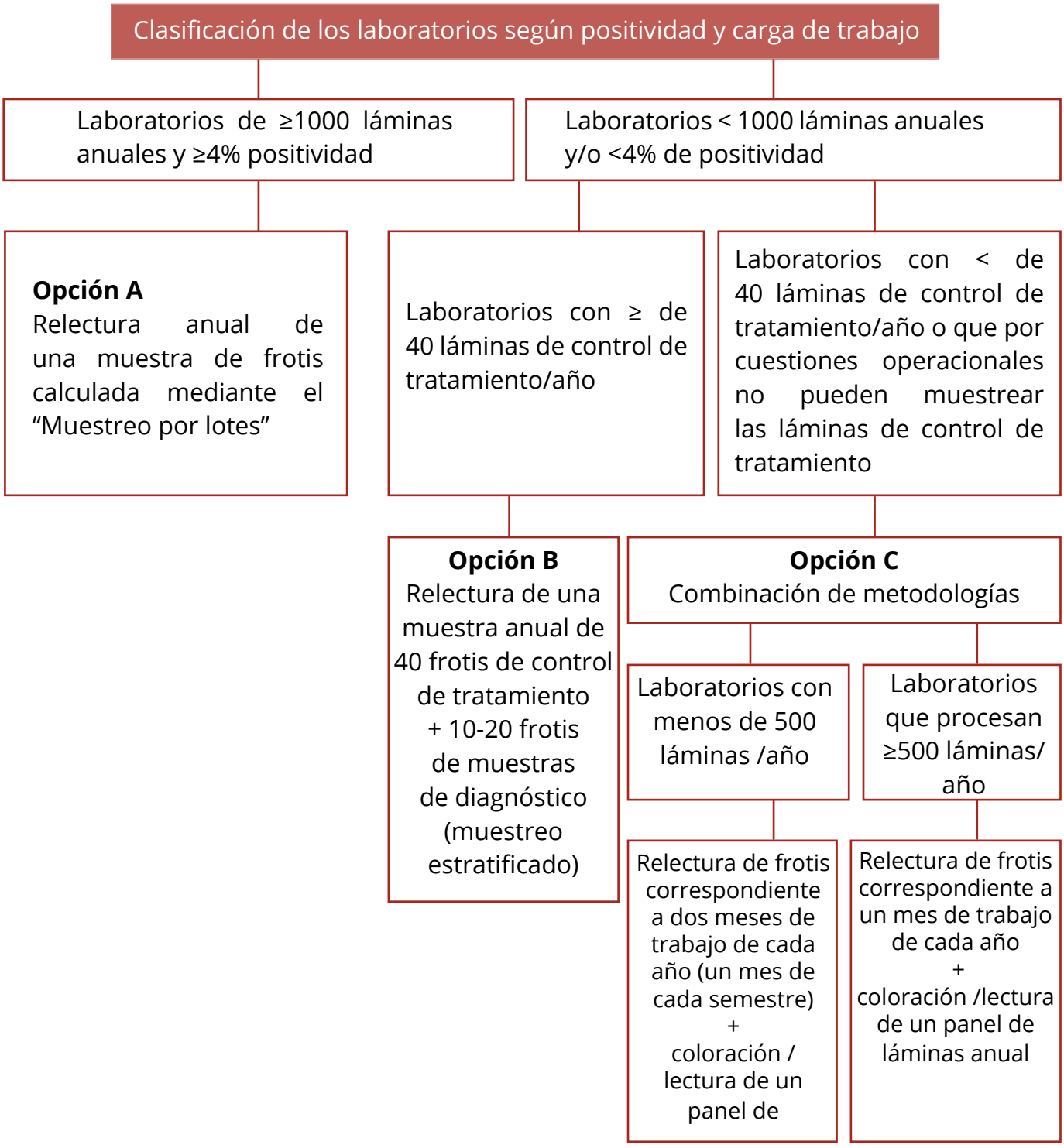
- el envío de un panel de extendidos por año para la prueba de aptitud.

De este modo la calidad de la lectura estará basada especialmente en los resultados obtenidos de la lectura de los paneles, mientras que la relectura de láminas de rutina permitirá la calificación de las muestras, extendidos y tinciones, aspectos fundamentales para lograr la prevención de errores.

En relación a los laboratorios que procesan menos de 500 láminas/año, que han sido incluidos en esta modalidad de EEC de baciloscopias, es necesario precisar que la experiencia internacional demuestra que esta baja carga de trabajo (menos de 10 extendidos por semana) puede no ser la óptima para el mantenimiento de habilidad en la lectura de BK. Por tanto, los gestores de las redes de laboratorios deben evaluar la factibilidad de sostener servicios de BK cuya carga de trabajo sea menor a 500 láminas/año o concentrar la realización de las BK en laboratorios cercanos, siempre y cuando pueda asegurarse un sistema de transporte de muestras efectivo que permita brindar acceso a un diagnóstico de calidad.

En el esquema 1 se resumen las distintas opciones aplicables para el cálculo de Nº de láminas a releer para la EEC de BK.

Esquema 1. Opciones sugeridas para la EEC de BK según niveles de positividad y carga de trabajo



Procedimientos

Se detallan a continuación los pasos metodológicos que deben seguirse para que la evaluación resulte certera y aplicable en condiciones de terreno. El desarrollo del procedimiento incluye la elaboración de un conjunto de formularios, correspondientes a los Anexos B.2 a B.6, que han sido diseñados para guiar al laboratorio supervisor en el procedimiento de relectura a ciegas de las láminas, la evaluación del desempeño de los supervisores, la confección del informe de resultados y la consolidación de los resultados de la relectura de los laboratorios supervisados pertenecientes a una determinada área.

1. Periodicidad de envío de las láminas al laboratorio supervisado para la selección de la muestra

Las láminas serán seleccionadas en el servicio supervisor, por un coordinador de relectura que trabaja en dicho laboratorio, una vez que las láminas realizadas durante un período hayan sido remitidas desde el servicio supervisado al laboratorio supervisor.

Cuando el cálculo del número de las láminas a releer se realiza mediante las opciones A y B de muestreo (Ver esquema 1), la selección de la muestra puede realizarse utilizando dos alternativas:

• Muestreo de todas las láminas procesadas durante un año:

El muestreo de las láminas procesadas durante todo el año de trabajo es considerado el más recomendable para la recolección de la muestra de láminas a releer. Para ello se requerirá que el servicio realice envíos parciales (por ej. mensualmente, trimestralmente o cuatrimestralmente) de la totalidad de las láminas realizadas en el año al laboratorio supervisor. De esta manera el laboratorio supervisor tomará una muestra de las láminas de cada período del año, siguiendo las siguientes indicaciones:

- Dividir el tamaño muestral anual calculado de cada laboratorio por 3 si la frecuencia del control es cuatrimestral ó 4 si es trimestral (por ej. si el número anual de extendidos a releer es 96 y el control se realiza trimestralmente, el número de láminas a recolectar en cada período será igual a 96/4 es decir 24 láminas por trimestre).

- Con la información calculada en el punto anterior, confeccionar un listado de los laboratorios a supervisar y el N° de láminas a seleccionar durante cada período.

• Muestreo de las láminas procesadas durante un período del año.

Cuando la alternativa anterior, por razones operativas, no fuera posible, es aceptable que el muestreo se realice sólo sobre un período determinado del año. Para ello, se requerirá la remisión del total de láminas realizadas en sólo un período determinado

del año, el cual debe ser establecido por el Laboratorio de referencia (por ej. un mes). Esto es factible siempre y cuando la carga de trabajo del laboratorio durante dicho período (en este caso, un mes) resulte suficiente como para tomar el número de láminas calculado mediante la metodología de muestreo elegida (muestreo por lotes de todas las láminas procesadas -opción A- o muestreo estratificado de las láminas de control de tratamiento-opción B). En este caso, el laboratorio remitirá las láminas correspondientes a ese período ante la solicitud de las mismas por parte del laboratorio supervisor. En lo posible, cada laboratorio debe ser supervisado al menos dos veces al año. Los laboratorios de reciente integración o aquellos en los cuales se encuentren discordancias significativas deben ser supervisados con mayor frecuencia, por ej., una vez cada dos meses, hasta que se asegure calidad adecuada y estable.

Para llevar a cabo este procedimiento, el laboratorio supervisor deberá seguir los siguientes pasos:

- Confeccionar, a principios del año, un cronograma con los laboratorios de la red a supervisar de enero a junio y de julio a diciembre (o de enero a diciembre en el caso que se haya decidido que sólo se podrán recolectar las láminas de un mes de cada año). Los laboratorios no deben conocer de antemano en qué meses serán supervisados.

- Informar, a finales de cada mes, (por correo electrónico, por teléfono, por ej.) a los laboratorios que quedaron seleccionados para ser supervisados ese mes, que deben remitir la totalidad de sus láminas correspondientes al mes en curso.

Esta última forma de remisión de láminas desde el laboratorio supervisor es también la que debe emplearse cuando el cálculo del número de láminas a releer se ha establecido mediante la opción C (Ver Esquema 1), ya que la misma establece la relectura de la totalidad de las láminas realizadas en el laboratorio a supervisar en un mes de cada año o cada semestre, según la carga de trabajo del servicio a evaluar. Por tanto, los laboratorios en los que se ha decidido usar la opción C deberán ser incluidos en el cronograma de laboratorios a supervisar durante un período determinado.

En el anexo B.1 se muestra un ejemplo del Registro utilizado para documentar el cronograma de laboratorios a supervisar durante un semestre. El mismo registro puede ser empleado para anotar la fecha de solicitud de las láminas al servicio a supervisar, la recepción del acuse de recibo (en caso que el aviso haya sido dado por correo electrónico, por ej.) por parte del laboratorio a supervisar y la fecha de recepción de las láminas en el laboratorio supervisor. Observar que la fecha de solicitud de las láminas corresponde a los últimos días del mes o los primeros días del mes siguiente al que se están solicitando los extendidos, ya que esto asegura que el laboratorio que se va a supervisar no conozca de antemano que será evaluado durante ese mes.

Conservación de las láminas en los laboratorios

Todos los laboratorios de la red que realizan BK deben conservar adecuadamente la totalidad de las láminas procesadas, incluidas las láminas utilizadas en el control de calidad interno de la coloración.

Para ello, se debe proceder de la siguiente manera:

• Quitar el aceite de inmersión, luego de examinar los extendidos, dejando el portaobjeto en posición vertical sobre un papel absorbente hasta la mañana siguiente. Luego apoyar suavemente la cara del portaobjetos que tiene el extendido de las muestras sobre otra tira de papel absorbente. Nunca intentar remover el remanente de aceite por frotado del extendido.

• Guardar los extendidos en cajas histológicas en el mismo orden en que fueron procesados, sin separar los positivos de los negativos. No se debe rotular en el extendido el resultado de su lectura. Si no se dispusiera de cajas especiales, los extendidos pueden ser guardados en cajas de cartón envueltos individualmente en papel, en paquetes que agrupen los de un día o de una semana, rotulados con la fecha, en el orden en que se realizaron. No poner en este rótulo el resultado de la lectura de cada una de las láminas.

• Conservarlos en lugar fresco y seco para evitar los efectos del calor y la humedad sobre la coloración.

Nota: Para aquellos laboratorios en los que el muestreo de las láminas sea realizado sobre un período de un año (por ej. un mes de cada semestre), el laboratorio deberá conservar las laminas al menos durante los 15 días posteriores a cada mes, para el caso que el laboratorio supervisor les solicite las láminas para su relectura. Los laboratorios que han sido seleccionados deberán continuar conservando las láminas de cada mes dentro del semestre o del año correspondiente, dado que, en caso que su desempeño no fuera aceptable, es posible que les sean solicitadas las láminas procesadas durante otro mes del mismo año/semestre.

Para su envío al laboratorio supervisor, acondicionar la totalidad de los mismos en una caja para envío **agregando una copia de las hojas del Registro de Laboratorio** correspondiente a ese período. El registro debe incluir la información acerca de si las láminas corresponden a una muestra de diagnóstico o de control de tratamiento.

Selección de las láminas en el laboratorio supervisor.

Una vez que las láminas procedentes del laboratorio a supervisar han llegado al laboratorio supervisor, el coordinador encargado de la selección de láminas deberá proceder de la siguiente manera:

• Marcar el período que cubre el muestreo en el registro de laboratorio y registrar el número total de extendidos realizados durante este período.

• Dividir el número de extendidos realizado durante el período por el tamaño muestral.

• Redondear el resultado al siguiente número entero; esto permite calcular el "intervalo de muestreo". Por ej., suponga que en el trimestre se realizaron 230 extendidos y que debe tomar 24 láminas, por tanto, divida 230/24= 9,6. Es decir, se debe tomar 1 lámina de cada 10.

• Registrar en el formulario de muestreo (Anexo B.2) el nombre del laboratorio a evaluar y el período que cubre la recolección de la muestra.

• Seleccionar el primer extendido de la muestra, usando un número aleatorio de 1 a 9, contando desde el primer registro incluido en el muestreo. Por ej. si el número aleatorio fuera 4, el extendido n°4 contando desde del primer registro del período a evaluar será el primer extendido. Los extendidos deben ser siempre seleccionados usando el registro de laboratorio y no a partir de la caja con los extendidos.

• Registrar sólo la identificación del primer extendido en el Formulario del Anexo B.2, sin anotar el resultado de la lámina.

• Comenzar a contar los extendidos, partiendo del primer extendido seleccionado en el registro, usando el número correspondiente al "intervalo de muestreo", hasta llegar al segundo extendido del muestreo y registrarlo en el formulario. Por ej. siguiendo el ejemplo anterior, si el primer extendido era el nº 4 del registro (extendido 239) y el intervalo de muestreo es 10, el segundo extendido será el nº 14 (4 + 10; extendido 249) (Ver ejemplo).

Ejemplo de selección de láminas a releer en el laboratorio supervisor

Registro de investigación bacteriológica de casos de tuberculosis

Servicio: Hosp. de Area

Nº orden	Fecha	Nombre y apellido	DNI	Inmuno-comp.	trat. previo	Servicio derivante	Tipo de muestra	Resultados							Observaciones
								Xpert	Diagnóstico			Control tratamiento		Cultivo	
									1º	2º	otras	mes	Resultado		
236	02-may		21457890			Hospital	Esputo			Neg					
237	02-may		15789456			Hospital	Esputo		2+						
238	03-may		1935678			Hospital	Esputo		neg						
239	03-may		15789456			Hospital	Esputo			3+					
240	04-may		4123456			Hospital	Esputo			neg					
241	05-may		14789001			Hospital	Esputo		neg						
242	05-may		16732456			Hospital	Esputo		neg						
243	05-may		29523778			Hospital	Esputo		3+						
244	06-may		18900023			Hospital	Esputo		neg						
245	09-may		29523778			Hospital	Esputo			2+					
246	09-may		1000897			Hospital	Esputo		neg						
247	10-may		12456723			Hospital	Esputo		neg						
248	11-may		1342356			Hospital	Esputo		neg						
249	12-may		14777890			Hospital	Esputo		neg						
250	13-may		234123333			Hospital	Esputo		neg						

• Continuar de este modo hasta alcanzar el tamaño muestral requerido. En caso de que se llegue el final del período antes de recoger toda la muestra, retornar al inicio del registro y continuar contando allí.

• Recolectar en una caja los extendidos seleccionados y chequear nuevamente la lista.

• Si existiera algún extendido faltante, registrar su ausencia en el formulario y recoger el extendido siguiente del registro, colocando su identificación al final del formulario.

• Si al finalizar la selección de la muestra, por azar, no se ha incluido ningún extendido positivo, adicionar uno o dos a partir de los datos de registro, buscando desde el inicio del mismo.

• Remitir la muestra de extendidos con el formulario del Anexo B.2 al supervisor.

• Guardar la copia del registro de laboratorio con los resultados de las láminas seleccionadas en una carpeta física o electrónica a la que no puedan tener acceso los técnicos supervisores.

Lectura comparativa de láminas.

Una vez seleccionadas las láminas, las mismas deberán ser examinadas por el primer supervisor. El supervisor sólo deberá recibir los extendidos y una copia del formulario con los números de identificación de las láminas sin los resultados.

Procedimiento de la relectura a ciegas
El primer supervisor deberá:

- Si los extendidos presentaran restos de aceite de inmersión, sumergirlos en una mezcla de 80/20 éter etílico/etanol y dejar que se sequen al aire.

- Recolorear todas las láminas con auramina, si el laboratorio supervisado realiza microscopía de fluorescencia, antes de ser leídas. Para esto es muy útil utilizar la coloración en canastas de tinción, ya que permite colorear varios extendidos a la vez con menor esfuerzo que utilizando la clásica de coloración sobre soporte. A estas láminas no se les calificará la coloración.

- Efectuar la lectura de las láminas de acuerdo a las normas técnicas establecidas para la lectura de los extendidos durante el trabajo diario de diagnóstico (chequear el mismo número de campos que el establecido para la lectura de rutina en el Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte 4. Actualización de la baciloscopia (2018)).

- Recolorear todos los extendidos coloreados por ZN en caso de que se sospeche decoloración. Esto podría suceder cuando después de la relectura de las láminas se observa que el primer supervisor detecta sistemáticamente una cuantificación menor a la informada por los laboratorios supervisados.

- Para la recoloración, utilizar el mismo procedimiento que para la coloración de rutina. No es necesario decolorar los extendidos antes de recolorearlos. Al recolorear, registrar en el formulario que este procedimiento ha sido realizado indicando la fecha en que se efectuó.

- Registrar los resultados de la lectura microscópica en el Formulario del Anexo B.2.

- Registrar en el formulario del Anexo B.2 como "excluidos/problemas de identificación" o "excluido/dañado" los extendidos que no estén claramente identificados o que estén severamente dañados y no releerlos.

- Efectuar, durante la lectura, un análisis técnico de cada lámina releída en lo relativo a la calidad de muestras y las características del extendido realizado a partir de muestras de esputo (tamaño, grosor, homogeneidad). Para extendidos que no han sido recoloreados, también se registrará la intensidad de la coloración de los bacilos, presencia de artefactos y la coloración de fondo. La evaluación de estos tópicos también se registrará en el Formulario del Anexo B.2. Para este análisis se sugiere emplear las pautas descriptas en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de los extendidos según características de la muestra, extendido y coloración

Calidad de la muestra	(sólo para extendidos de esputo coloreados por ZN)
Mucopurulenta	La mayoría de los campos presenta leucocitos, además de mucus
Mucosa	La mayoría de los campos presenta mucus y muy aislados leucocitos
Saliva	En la mayoría de los campos se observan células epiteliales, escaso mucus y muy escasos leucocitos.
Calidad del extendido	
Bueno	Al ojo desnudo del supervisor, el extendido ocupa 2-3 cm de largo por 1-2 cm de ancho. Está homogéneamente distribuido y la coloración de contraste no es intensa. Microscópicamente, la mayoría de los campos presenta cantidad suficiente de material, de manera que al mover el enfoque micrométrico a una amplificación de 800-1000x se observan entre 1 y 3 niveles.
Fino	La mayoría de los campos microscópicos presenta escaso material.
Grueso	Al ojo desnudo del supervisor, la apariencia de la lámina es de color azul o marrón oscuro (según el colorante de contraste que se emplee). Microscópicamente, la mayoría de los campos presenta abundante material y al mover el enfoque micrométrico a una amplificación de 800-1000x se observan más de 3 niveles.
No homogéneo	Presenta zonas finas y zonas gruesas.

Calidad de la coloración (sólo para extendidos teñidos por ZN que no han sido recoloreados antes de la relectura)	
Buena	Se pueden leer 100 campos microscópicos con coloración buena en todo el extendido. Se considera que los campos microscópicos tienen tinción buena cuando la coloración de fondo no presenta artefactos rojo fucsia (precipitados o cristales de fucsina) y el contraste es de color azul claro. En algunos casos, se acepta que la coloración de fondo presente una leve tonalidad rosa. Si se observan bacilos, estos deben aparecer de color rojo fucsia intenso.
Buena con cristales/precipitados de fucsina)	Se pueden leer 100 campos microscópicos buenos, a pesar de que en el resto del extendido se encuentren campos con cristales o precipitados de fucsina.
Buena (con falta de decoloración)	Se pueden leer 100 campos microscópicos buenos, a pesar de que en el resto del extendido se encuentren campos con decoloración insuficiente (coloración de fondo rosa intensa).
Deficiente:	La presencia de cristales/precipitados o la falta de decoloración no permiten leer correctamente al menos 100 campos microscópicos.

• Luego de la relectura, dejar que el aceite de inmersión escurra colocando el extendido en posición vertical sobre un papel absorbente y, luego apoyar la cara del portaobjetos que tiene el extendido de la muestra suavemente sobre otra tira de papel absorbente (sin frotar). Colocar nuevamente los extendidos en su caja original.

• Conservar todos los extendidos al abrigo de la luz y en lugar seco y fresco, hasta que se hayan resuelto las discordancias (en caso de existir).

Evaluación de los resultados

Evaluación de la calidad de la muestra/ extendido

• Calcular el porcentaje de **muestras** de esputo mucopurulentas, mucosas y salivosas.

• A partir de estos cálculos, calcular el porcentaje de muestras de esputo con calidad adecuada que se obtiene sumando los porcentajes de muestras mucopurulentas y mucosas.

• Observar en el informe que un laboratorio tiene un nivel no aceptable de muestras adecuadas, sólo cuando una importante cantidad de extendidos son finos sin leucocitos (usualmente >30%). Esta recomendación obedece a que la muestra de láminas a releer que resulta de la utilización de las opciones A y C de muestreo (ver Esquema 1) incluye muestras de diagnóstico y control de tratamiento, y es bien reconocido que los extendidos de las muestras de control de tratamiento suelen presentarse como finos y con muy escasos leucocitos. Este análisis, por tanto, no es válido cuando se emplea el muestreo estratificado, dado que, en este caso la mayoría de las láminas provendrán de muestras de control de tratamiento.

• Observar además en el informe de resultados que la **calidad del extendido** no es buena cuando existe una tendencia a realizar extendidos con algún defecto (corto, no homogéneo, grueso, fino) entre las muestras de esputo calificadas como con calidad adecuada.

Evaluación de la calidad de la coloración

• Calcular los porcentajes de cada una de las calificaciones de coloración de todas las láminas coloreadas por ZN en el laboratorio supervisado, pulmonares y extrapulmonares.

• Considerar que un laboratorio tiene un nivel aceptable de calidad técnica de coloración, cuando la proporción de coloraciones buenas más buenas con objeciones es mayor al 95%.

• Aun cuando se alcance este porcentaje, observar en el informe de resultados que la calidad de la coloración no es óptima, cuando existe una tendencia a realizar extendidos con coloraciones con algún defecto (precipitados/cristales de fucsina, falta de decoloración, coloración de contraste muy intensa) aun cuando en dichos extendidos puedan observarse 100 campos microscópicos con tinción buena.

Evaluación de la calidad de la lectura

Para la evaluación de la calidad de la lectura, deben realizarse una serie de actividades, en las que participan el coordinador local y eventualmente un segundo supervisor, según se describe a continuación siguiendo una secuencia cronológica de acciones:

Actividades del coordinador local

• Copiar los resultados obtenidos originalmente por el laboratorio supervisado correspondientes a las láminas leídas por el primer supervisor en el Formulario del Anexo B.2.

• Identificar los resultados discordantes entre el primer supervisor y el laboratorio supervisado, éstos pueden ser positivo vs. negativo, o errores de cuantificación (Ver el apartado de "Definiciones básicas").

• Listar las láminas con resultados discordantes en el Formulario del Anexo B.3. Registrar el nombre del laboratorio, el número de identificación de cada lámina y los dos resultados discordantes como "resultado 1" y "resultado 2". Para asegurar que el segundo supervisor no conozca la identidad de cada resultado, usar alternativamente cada columna para colocar los resultados del laboratorio supervisado y el supervisor, es decir, por ejemplo, para algunos laboratorios usar la columna "Resultado 1" para el resultado del laboratorio supervisado mientras que para otros laboratorios usar la columna "Resultado 2".

• Pedir al primer supervisor que separe las láminas discordantes para que sean leídas por un segundo supervisor.

• No proveer, en este momento, ninguna retroalimentación al laboratorio supervisado, ya que los errores aun no han sido validados.

Actividades del segundo supervisor

• Recolorear todas las láminas con resultados discordantes, a menos que ya hayan sido recoloreadas durante el primer control; en este último caso sólo se recoloreará cuando las láminas hayan estado mal conservadas luego de la primera recoloración.

• Rechequear estas láminas. Usar los resultados del laboratorio supervisado y el primer supervisor (Resultado 1 y Resultado 2) para determinar el número de campos a ser leídos. Así,

- para discordancias, positivo franco (1+, 2+, 3+) /negativo, leer 200 campos

- para discordancias positivo contables/ negativo, examinar 500 campos;

- para diferencias de cuantificación examinar tantos campos como sea necesario para cuantificar el extendido discordante usando la escala semicuantitativa normada por el PNT. Para determinar el N° de campos a examinar en función de la cantidad de bacilos observados, emplear las indicaciones que se encuentran en el Manual para el diagnóstico bacteriológico de tuberculosis parte I: baciloscopia de OPS (2008).

• Anotar los resultados en la columna correspondiente al segundo supervisor y remitir al coordinador junto con las láminas.

Actividades del coordinador local

• Copiar los resultados del segundo supervisor en la columna apropiada del formulario del Anexo B.2.

• Usando los resultados del segundo supervisor como de referencia, determinar quién ha sido responsable del error, mediante el uso de la Tabla 5. Recordar que los errores pueden ser cometidos por el técnico en el laboratorio supervisado o por el primer supervisor.

Tabla 5. Comparación de lecturas de baciloscopias

Lectura laboratorio supervisado	**Lectura laboratorio supervisor**				
	Negativo	Contables	+	++	+++
Negativo	**Concordancia**	Falso negativo bajo	Falso negativo alto	Falso negativo alto	Falso negativo alto
Contables	Falso positivo bajo	**Concordancia**	**Concordancia**	Error de cuantificación	Error de cuantificación
+	Falso positivo alto	**Concordancia**	**Concordancia**	**Concordancia**	Error de cuantificación
++	Falso positivo alto	Error de cuantificación	**Concordancia**	**Concordancia**	**Concordancia**
+++	Falso positivo alto	Error de cuantificación	Error de cuantificación	**Concordancia**	**Concordancia**

• Completar en la tabla ubicada en la parte inferior del formulario del Anexo B.2 con los números de las láminas examinadas y los errores cometidos tanto por el primer supervisor como por el laboratorio supervisado.

Interpretación de los resultados e informe

Cuando se ha decidido realizar un muestreo de las láminas procesadas durante todo el año de trabajo, la interpretación final de los resultados de la EEC es sólo posible después que se hayan procesado todas las láminas correspondientes al tamaño muestral completo de ese año. Sin embargo, cuando los errores son importantes (más de un FPA o FNA o varios FNB y FPB) después del primer/os período/s controlado/s, esto debe ser informado inmediatamente, debiendo realizarse una visita técnica al laboratorio a fin de identificar las causas de los errores. También, aun cuando los laboratorios no presenten errores o los errores identificados no sean graves, puede optarse por realizar informes parciales de retroalimentación con el fin de motivar a los laboratorios a continuar con la recolección y guardado de los extendidos y mejorar su desempeño.

Previo al envío del informe al laboratorio supervisado, validar los resultados de la relectura del primer supervisor.
Para ello se debe:

• analizar el N° de FN cometidos por el primer supervisor. Si el número de FN es muy alto o, éste detecta sistemáticamente una cuantificación menor a la informada por el laboratorio supervisado, es posible sospechar que los BAAR pudieron haberse decolorado previo a la lectura del primer supervisor.

• descartar los resultados de la relectura si se sospecha decoloración de los BAAR ya que los resultados obtenidos carecen de confiabilidad, y recolorear todos los extendidos antes de volver a leerlos por parte del primer supervisor.

Interpretación de los resultados

Cuando para el cálculo del tamaño muestral mediante el muestreo por lotes se toma como número aceptable de errores (d) un valor de 0, en principio no sería aceptable el desempeño de cualquier laboratorio en el que se identificara algún error. Sin embargo, la interpretación de los resultados debe considerar las limitaciones del sistema. Como ya se mencionó, para que el método pueda ser aplicable en condiciones de terreno, la muestra debe ser pequeña a fin de evitar sobrecargar a los supervisores, pero a causa de este tamaño muestral tan reducido, es esperable la ocurrencia de algunos hallazgos fortuitos. Adicionalmente, la ausencia de un *valor de referencia* objetivo para el procedimiento de relectura y las limitaciones inherentes a la técnica de BK, asociadas a la distribución no homogénea de los BAAR en el esputo (que ocasiona una limitada concordancia entre los lectores para extendidos con escasos BAAR) o la posible decoloración de los bacilos bajo condiciones de almacenamiento inadecuadas, hacen que los resultados de la relectura deban ser interpretados con cautela. Por tanto, **el hecho de encontrar un único error no prueba que haya un problema real en el laboratorio supervisado** y la investigación podría indicar que este hallazgo fue una detección casual de un error aleatorio o falsa alarma. **Este es un concepto fundamental que debe ser tenido en cuenta por el LNR cuando se realiza la interpretación e informe de la EEC por relectura.**

Por esta razón tendrán prioridad para la acción correctiva aquellos laboratorios que superan claramente los límites de rendimiento establecidos por el PNT: más de un FPA o FNA, o varios LFN o LFP. En los otros casos, una nueva relectura de láminas nos dejará en claro si existe un problema real en el laboratorio.

La identificación de errores, por tanto, no significa automáticamente que el laboratorio tiene calidad no adecuada, sino que la presencia de dichos errores debe ser interpretada teniendo en cuenta el tipo y la frecuencia de errores identificados. En la siguiente tabla se presentan posibles causas, interpretación y recomendaciones frente a los hallazgos más frecuentes en la relectura de láminas de BK.

Tabla 6. Posibles causas, interpretación y recomendaciones frente a los hallazgos más frecuentes en la relectura de láminas de BK

Hallazgos más frecuentes	**Posibles causas**	**Interpretación del hallazgo/ recomendaciones a realizar en el informe de la relectura de láminas**
Un error FPA aislado	- Errores en la transcripción de resultados en la lista enviada. - Causas indeterminadas.	- Solicitar que se revise el resultado de la lámina en el registro original.
Algún FPB	- Limitación de la técnica de relectura (puede ser debido a resultados falsos negativos de los supervisores).	- Hallazgo de baja relevancia.
Presencia frecuente de FPA (generalmente acompañado de varios FPB)	- Microscopio en mal estado que dificulta la diferenciación de artefactos y BAAR. - Problemas graves con el registro de laboratorio. - Falta de entrenamiento apropiado. - Problemas con la coloración. ¿Se decoloraron los BAAR antes de la relectura? No se recolorea antes de que el segundo supervisor realice la lectura de las láminas discordantes.	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de las discordancias durante la visita referirse a la Tabla del Anexo B.7.
Algún FNB o un FNA	- Limitación de la técnica de relectura. - Errores en la transcripción de resultados en la lista enviada. - Causas indeterminadas.	- Hallazgo de baja relevancia si se trata de algún FNB. - Solicitar que se revise el resultado de la lámina en el registro original si se trata de un FNA.

Presencia de un número excesivo de FN (más de un FNA o varios FNB)	- Lectura superficial (en algunos casos relacionada a la sobrecarga de trabajo). - Problemas con la preparación de las soluciones de coloración (concentraciones inadecuadas del colorante primario/decolorante/ colorante de contraste, uso de soluciones de coloración después de la fecha de vencimiento). - Problemas en la técnica de coloración (calentamiento deficiente de la fucsina, tiempo insuficiente de exposición al colorante primario, tiempo excesivo con el colorante de contraste). - Problemas en la preparación del extendido (extendido muy grueso). - Microscopio en condiciones inadecuadas (generalmente luz insuficiente).	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de las discordancias durante la visita referirse a la Tabla del Anexo B.7.
Varios errores de cuantificación	- Problemas con las soluciones de coloración. - Problemas con la técnica de tinción. - Problemas con el microscopio.	- Solicitar se revise la preparación de los colorantes y la técnica de coloración que se está realizando. - Remitir colorantes y extendidos preparados en el laboratorio supervisor a fin de evaluar la coloración/microscopio.

Informe

• Confeccionar el informe de la supervisión empleando un formulario similar al presentado para registrar los resultados de la relectura (Formulario del Anexo B.2).

• Incluir un resumen de las observaciones realizadas sobre las muestras, los extendidos, las coloraciones, la concordancia de lecturas y las recomendaciones. La tabla 6 puede ser utilizada como guía para realizar la interpretación de los resultados y las recomendaciones a incluir en el informe de resultados frente a los errores más frecuentes hallados por el método de relectura.

• Si no se hubieran alcanzado los valores mínimos requeridos para la calidad de las muestras/extendidos o la coloración, o se observa una "tendencia" a realizar láminas con algún defecto técnico (en la preparación del extendido y/o en la coloración) (Ver Tabla 4) se debe hacer notar en el informe, indicando los **riesgos** de alterar la calidad de la BK la **probable razón del error** y la forma de **solucionarlo.** Por ej.: excesivos cristales de fucsina constituyen un riesgo de ser confundidos con BAAR; causa probable: concentración de fucsina superior a la normal o sin filtrar; solución: filtrar diariamente la solución de fucsina, comprobar si la cantidad de fucsina básica pesada es la normada. El "Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Parte 1. Actualización de la baciloscopia (2018)" provee una guía en la que se describen los problemas más frecuentes asociados a la coloración y preparación del extendido, las causas de dichos hallazgos, sus consecuencias en la ocurrencia de errores falsos positivos y/o falsos negativos y las medidas correctivas a aplicar para solucionar dichos problemas.

• Si se observa una "tendencia" a resultados cuantitativos sistemáticamente menores a los del laboratorio supervisor, hacerlo notar en el informe pues puede llevar a falsos negativos en las muestras con poca riqueza bacilar.

Nota: periódicamente, el laboratorio de referencia puede solicitar el envío de las copias de los informes remitidos a los laboratorios supervisados a fin de analizar la estructura y características del mismo.

En el Anexo B.8, se presentan algunos ejemplos de informes de resultados.

Conducta a seguir frente a discordancias

• Junto al informe de resultados, enviar la/s lámina/s discordante/s al responsable del laboratorio supervisado solicitándole que vuelva a leerla/s y/o que consulte sus registros, pues a veces las discordancias pueden deberse a errores de transcripción de resultados en la lista enviada.

• Visitar aquellos centros reconocidos con más de un FPA o FNA o varios FPB o FNB en la muestra anual a fin de averiguar las causas de los errores. El número total de falsos negativos (FNB + FNA) y la proporción de FNA se utiliza como base para priorizar las visitas a los laboratorios en los que la ocurrencia de FN constituye un problema que requiere investigación.

• Durante las visitas técnicas, analizar todas las posibles fuentes de error encontradas en la relectura de las láminas y solucionar los errores identificados. En el Anexo B.7 se presentan los pasos sugeridos para investigar los motivos de los errores durante la visita técnica.

• En el caso que se determine que el microscopista es incapaz de identificar correctamente los bacilos, planificar su recapacitación.

• Hacer un seguimiento de las sucesivas evaluaciones periódicas de calidad. Este seguimiento irá clarificando si el problema es fortuito o permanente. Si se tienen dudas acerca de si existe un problema en el laboratorio o si los hallazgos son simplemente por azar, es mejor no juzgar

negativamente el desempeño del laboratorio, sino simplemente mostrar los resultados y alentarlos a resolver las deficiencias encontradas. Se aconseja también en estos casos reforzar la evaluación de la calidad mediante el envío, lectura e interpretación de un panel de láminas preparadas por el LNR.

Evaluación de la competencia de los supervisores

Para facilitar el análisis de la competencia de un supervisor es útil evaluar su desempeño en la relectura de varios laboratorios. Los coordinadores locales de la relectura, ubicados en los laboratorios intermedios y de referencia son los encargados de asegurar que se analice el desempeño de los supervisores, ya que de esta actividad depende la validez de los resultados de la relectura. El llenado de un formulario con características similares al Formulario del Anexo B.4, puede ser de ayuda para esta actividad. Dicho formulario puede ser remitido desde el laboratorio intermedio al laboratorio de referencia, a fin de evaluar globalmente el desempeño de los supervisores, e indirectamente el rol de los laboratorios intermedios.

• Sospechar de un desempeño inadecuado del primer supervisor en las siguientes situaciones:

- No se detectan discordancias en las lecturas de varios laboratorios en los que regularmente se encuentran positivos. Esto se considera un resultado inesperado y puede estar asociado a la falta de cegamiento en la lectura por parte del supervisor.

- Se detecta que el primer supervisor comete más FN que los incurridos por los laboratorios que supervisa. Debido a que la reproducibilidad de las lecturas en extendidos con 1 a 9 BAAR en 100 campos es aproximadamente del 50%, el número de FPB y de FNB deben ser similares entre los resultados de los laboratorios supervisados y los del supervisor. Una distribución desigual podría indicar un problema de los supervisores. Por tanto, si se detecta que el primer supervisor comete más FN que los incurridos por los laboratorios que supervisa, esto puede estar asociado a una lectura poco rigurosa por parte del supervisor. En casos extremos, esto puede significar que no se hayan detectado los falsos negativos, lo que llevaría a invalidar los resultados.

Sin embargo, este análisis basado en la comparación del N° de errores entre el supervisor y el laboratorio supervisado no es válido en los siguientes casos:

- cuando se agregan positivos a la muestra de la relectura. Esto resulta en una proporción de positividad de la muestra releída por el supervisor mayor que la del laboratorio supervisado. En este caso el supervisor está en desventaja respecto al laboratorio supervisado y se espera que naturalmente pueda cometer más FN. Sin embargo, como regla general, podría considerarse que el porcentaje de verdaderos positivos (VP) identificados por el primer supervisor (VP identificados por el supervisor x 100/ (VP identificados por el supervisor + FN cometidos por el supervisor)) debe ser mayor al 90%.

- cuando, debido a las condiciones en que se almacenan las láminas, podría ocurrir que los BAAR se hubieran decolorado. Si el primer supervisor no recolorea antes de la relectura, entonces simplemente cometerá errores FN porque los bacilos se decoloraron y no son visibles en el microscopio. En casos extremos, cuando el número de FN cometidos por el supervisor es muy elevado (mucho mayor a los cometidos por los laboratorios que supervisa) y, debido a que no se puede aseverar que la ocurrencia de estos FN por parte del supervisor se deba a una lectura poco rigurosa o a la decoloración de los bacilos, la lectura se invalidaría y sería necesario recolorear todos los extendidos antes de volver a leer por parte del primer supervisor.

Sospechar también de un desempeño inadecuado del segundo supervisor en la siguiente situación:

- cuando se identifica un porcentaje elevado de FP confirmados por el segundo supervisor. Cuando debido a una lectura poco rigurosa, el primer supervisor identifica algunos probables FP, si el segundo supervisor se desempeña adecuadamente, éste detectará los probables FP del laboratorio supervisado como FN del primer supervisor y corregirá el error cometido por el primer supervisor. Pero si la lectura del segundo supervisor es también poco rigurosa, este error del primer supervisor no será corregido y por tanto se detectarán un número elevado de FP, mientras que la detección de FN tanto para el primer supervisor como para los laboratorios supervisados será muy rara. Siempre que se detecten varios FP en muchos centros, esto debe alertar acerca del desempeño de los supervisores. Sin embargo, esto también puede ser una consecuencia de la realización de la relectura sin recoloración.

En resumen, para considerar competente a un primer supervisor se deben haber registrado entre sus resultados:

- discordancias con las lecturas de varios laboratorios en los que regularmente se encuentran positivos;

- menos FN y menos FPB que los laboratorios supervisados (este análisis tiene validez relativa cuando la proporción de positividad de la muestra a releer es mayor que la de los laboratorios supervisados o cuando no se realiza recoloración de las láminas por parte del primer supervisor antes de la relectura);

- ausencia de errores FPA.

Registro de resultados globales de la lectura

• Confeccionar, al final de cada año, un informe de los servicios supervisados, que incluya un listado de los errores identificados en cada laboratorio, por tipo de error. Opcionalmente este listado puede realizarse para cada serie de muestras releidas (cuatrimestralmente, trimestralmente, semestralmente). El Formulario del Anexo B.5 presenta un modelo de dicho informe.

• Realizar, además, un informe con los resultados consolidados de los principales indicadores de desempeño calculados a partir de la relectura de todos los laboratorios correspondiente a un área. Un modelo de dicho informe se encuentra en el Anexo B.6. El cálculo de estos indicadores globales y su comparación con los parámetros determinados en años anteriores, permite analizar la tendencia de los indicadores de cobertura (N° y porcentaje de laboratorios evaluados) y desempeño global de los laboratorios (porcentajes de errores FN y FP, porcentajes de laboratorios con más de un FNA o FPA, etc.), a fin de poder identificar si las actividades correctivas aplicadas han sido efectivas para mantener y/o mejorar la calidad de los servicios.

Nota: Para la realización de los informes no se recomienda presentar indicadores en los que se sumen todos los errores juntos (FN y FP), ya que un único valor de concordancia o discordancia no es informativo, particularmente debido a que la ocurrencia de estos errores suele estar asociada a distintos problemas cualitativos relativos a la calidad del extendido y la coloración. Este tipo de análisis (porcentaje de concordancia) provocará la pérdida de una valiosa información; es importante tener en cuenta que el objetivo de la EEC no es puntuar a los laboratorios sino detectar problemas de desempeño. Se recomienda, además, no calcular frecuencias de errores para cada laboratorio, ya que el resultado de este cálculo es inexacto (amplios límites de confianza) debido al pequeño tamaño muestral. En cambio, sí pueden calcularse proporciones de errores para varios laboratorios de un área en conjunto.

Cálculo de porcentaje de falsos positivos y negativos para un grupo de laboratorios de un área

$$\textbf{\% Falsos positivos} = \frac{\text{Láminas informadas positivas por los laboratorios supervisados y negativas por el supervisor}}{\text{Total de láminas informadas como positivas por los laboratorios supervisados}} \times 100$$

$$\textbf{\% Falsos negativos} = \frac{\text{Láminas informadas negativas por los laboratorios supervisados y positivas por el supervisor}}{\text{Total de láminas informadas como negativas por los laboratorios supervisados}} \times 100$$

Seguimiento de la calidad de cada laboratorio

• Realizar un seguimiento del desempeño de cada uno de los laboratorios mediante el monitoreo de algunos indicadores de la EEC por relectura de cada laboratorio (N° de FNA, FNB, FPA, FPB identificados). Esto permitirá monitorear temporalmente la calidad en cada uno de ellos (identificar sus errores sistemáticos, avances logrados, ubicarlo en la categoría de laboratorio con consistente buena calidad) y facilitará la planificación de las visitas técnicas, de la capacitación o adquisición de recursos, de acuerdo con el desempeño que hayan demostrado. En el Anexo B.9. se presenta una planilla tipo para registrar esta información. Una forma sencilla de analizar rápidamente los datos vertidos en el mismo, es mediante la utilización de hojas de cálculo que permiten la aplicación de "formatos condicionales" a algunas columnas, de tal manera que las celdas quedarán etiquetadas automáticamente por color, según los laboratorios queden clasificados como por debajo o encima de un nivel de rendimiento predefinido. Así por ej., podría diseñarse una hoja de cálculo (con las características del Formulario del Anexo B.9) en las que las celdas correspondientes al N° de FNA o FPA se colorearan de rojo cuando el N° incorporado en la misma fuera ≥2, de amarillo cuando el valor incluido fuera 1 y de verde cuando fuera 0. De manera similar las celdas correspondientes al N° de FNB y FPB podrían formatearse para que se coloreen de rojo cuando los valores son mayores o iguales a 3, de amarillo para un valor de 2, y de verde para valores menores a 2. Un ejemplo de una planilla con estas características, en la que se identifica visualmente que las medidas correctivas aplicadas fueron efectivas para revertir los errores cometidos por el laboratorio, puede encontrarse en el Anexo B.10.

Prueba de aptitud de lecturas de baciloscopias (Supervisión Centro-Periferia)

La supervisión indirecta, técnica de BK bajo la modalidad "Centro-Periferia", consiste en el envío de paneles de láminas preparadas en el Laboratorio de Referencia para su lectura en el laboratorio a supervisar y comparación de resultados. Evalúa sólo la capacidad de lectura e informe de resultados, pero no el procedimiento integral de la BK. Se pueden agregar algunos extendidos sin colorear para evaluar la calidad de los colorantes/coloración. Este método no evalúa el rendimiento de todo el laboratorio, sino el de cada técnico individualmente.

Algunas de las ventajas de este método son:

- ofrece la posibilidad de realizar una evaluación de calidad en un gran número de laboratorios a la vez,
- permite tener resultados de consenso,
- genera poca sobrecarga de trabajo para los laboratorios supervisados.

Sus desventajas son que no evalúa la práctica rutinaria e implica una sobrecarga de trabajo para el laboratorio supervisor.

Esta modalidad de evaluación es útil para:

- tener datos de la calidad de la lectura, especialmente en cuanto a reconocimiento de bacilos.
- suplementar la EEC por relecturas de BK de rutina cuando el número de láminas realizadas por el laboratorio y/o su positividad son muy bajos (Opción C del método de EEC; Metodología combinada).
- evaluar a técnicos después de un entrenamiento.
- mantener la habilidad de reconocer bacilos en aquellos laboratorios que por procesar pocas muestras tienen poca oportunidad de ver BK positivas.

Recursos necesarios

- Laboratorio de referencia con capacidad técnica y operativa para la preparación y validación de lotes de láminas.
- Mecanismos de distribución de paneles y recursos económicos para el envío.
- Personal de laboratorio supervisor con tiempo suficiente para analizar los resultados.
- Formularios y sistemas de comunicación fluidos.
- Capacidad del laboratorio de referencia para implementar las medidas correctivas necesarias incluidas la recapacitación.

Preparación de los extendidos

Hace algunos años los paneles de extendidos se preparaban utilizando las láminas realizadas en la práctica diaria en los laboratorios supervisores. Otra opción que se empleaba era la realización de un gran número de extendidos a partir de una misma muestra de esputo. Sin embargo, dado que este procedimiento no garantizaba la homogeneidad en el número de BAAR a leer en todos los extendidos preparados, era necesario colorear y leer cada una de las láminas antes de preparar los paneles. Además, estos procedimientos de preparación de extendidos tenían problemas de consistencia, lo que hacía dificultosa la comparación de rendimientos entre los distintos técnicos.

Actualmente se recomienda la preparación de paneles a partir de extendidos especialmente desarrollados para tal fin, que llamaremos Lotes de extendidos, (Ver Apartado de Definiciones Básicas) siguiendo un procedimiento uniforme descripto en el Anexo C.1 de este manual. Dicho procedimiento incluye además registros y formularios para recoger información sobre la calidad de las láminas que conforman los lotes de extendidos (Anexo C.2 y C.3).

Estos extendidos especialmente confeccionados presentan las siguientes características:

- pueden ser teñidos o sin teñir
- tienen una cantidad de BAAR conocida
- presentan mínimas variaciones en la cantidad de bacilos presentes en las láminas con el mismo resultado semicuantitativo, lo que minimiza la variación de los resultados esperados

- permiten proveer de una prueba uniforme para los técnicos participantes La preparación de paneles de extendidos requiere tiempo, práctica y experiencia. Se recomienda que los mismos sean realizados y validados en el LNR para que tengan uniformidad en todo el país.

Número y tipo de extendidos que constituyen el panel

El número de láminas de cada panel debería ser suficiente como para dar validez a la prueba, pero no sobrecargar el trabajo del técnico a evaluar ni el del LNR que prepara los paneles. En la práctica se considera que es imposible preparar un panel lo suficientemente grande para realizar una evaluación del rendimiento del técnico que posea significación estadística. Se consideran apropiados paneles de 10 extendidos (lo que representa alrededor de la mitad del número máximo de extendidos coloreados por ZN que un técnico podría examinar por día sin pérdida de calidad). Debe haber negativos y positivos de diferentes grados incluyendo extendidos positivos contables. Deben prepararse paneles exactamente iguales para todos los laboratorios que participarán en cada ronda. El grado de dificultad se incrementa a medida que aumenta la proporción de extendidos con baja positividad. Los LNR que se inician en el empleo de paneles suelen enfocarse en los errores mayores, por lo que es común que empleen paneles con bajo grado

de dificultad. A medida que los programas de EEC se van estableciendo, se recomienda monitorear también los errores menores; el uso de paneles de mayor grado de dificultad puede ser útil para tal objetivo.

Algunos ejemplos de paneles se presentan a continuación:

	Grado de dificultad		
Extendidos	**1ro**	**2do**	**3ro**
3+	1	1	-
2 or 3+	-	-	1
2+	1	1	-
1+	1	2	2
Contables	2	3	3
Negativos	5	3	4
Total	**10**	**10**	**10**

Los paneles pueden estar compuestos por extendidos coloreados y/o no coloreados. Esto dependerá de los objetivos de la evaluación del panel y de los recursos disponibles. La siguiente tabla resume las ventajas y desventajas de los paneles coloreados vs. no coloreados.

Tabla 7. Ventajas y utilidad de los paneles de láminas coloreados y no coloreados a emplear en las pruebas de aptitud

Utilidad y ventajas	Desventajas
Paneles coloreados	
- Permiten evaluar la calidad de los técnicos en la lectura e informe de resultados. - Pueden ayudar a identificar problemas con la calidad y funcionamiento de los microscopios. - Pueden ser usados varias veces, dependiendo de las condiciones de conservación de las láminas.	- No se puede obtener información acerca del desempeño de los técnicos para colorear ni de la calidad de los colorantes.
Paneles no coloreados	
- Permiten evaluar la calidad de los técnicos en la lectura e informe de resultados. - También permiten evaluar la calidad de los colorantes/coloración - Disminuye la carga de trabajo y el consumo de colorantes en el LNR	- Sólo pueden ser empleados una vez.

En el caso de los paneles no coloreados, cuando un laboratorio tiene más de un técnico, se deberá optar por enviar un solo panel que será coloreado por un técnico y leído por todos los otros, o por el envío de un panel por cada técnico; en este último caso, la carga de trabajo para el LNR se incrementará notablemente.

La composición de los paneles enviados a cada laboratorio debe ser registrada en un formulario como el que se muestra en el Anexo C.4.

Consideraciones generales y recomendaciones para la organización, lectura y evaluación

Los aspectos más importantes a tener en cuenta son los siguientes:

• **Frecuencia de las evaluaciones.** Se recomienda que la frecuencia de envío de paneles sea de al menos una vez al año cuando se emplea la "Combinación del método de relectura de láminas complementado mediante paneles (Alternativa C; Ver Esquema 1). Si el sistema de evaluación externa de BK sólo es realizado mediante el uso de paneles, es recomendable aumentar la frecuencia a dos veces al año.

• **Cooperación de los laboratorios intermedios**. Es muy conveniente que las rondas de paneles sean realizadas en colaboración estrecha con los laboratorios de nivel intermedio; así, el LNR enviará los paneles a los laboratorios intermedios y éstos serán los encargados de distribuirlos a los laboratorios periféricos; del mismo modo serán los responsables de solicitar los resultados y enviarlos al LNR; también serán los encargados de realizar las visitas técnicas a los laboratorios con técnicos que presenten bajo desempeño y la recapacitación del personal en caso de ser necesario.

• **Instrucciones para los laboratorios participantes:** El panel de láminas debe ser enviado junto con un formulario de informe de resultados que incluya una descripción del objetivo de la prueba e instrucciones básicas para el desarrollo de la actividad, por ej. la necesidad o no de colorear, el tiempo para el envío de los resultados. Un ejemplo de este formulario se encuentra en el Anexo C.5.

• **Distribución de los paneles.** La distribución por correo u otro sistema de envío es aconsejable cuando las visitas directas a los laboratorios por parte del laboratorio intermedio no puedan realizarse frecuentemente o cuando se planifica el envío simultáneo a todos los laboratorios.
Si son enviados por correo es conveniente disponer de un contenedor adecuado que prevenga las roturas de los extendidos. El envío de resultados desde los servicios periféricos puede realizarse también por correo postal o por medios electrónicos, siempre y cuando los formularios estén disponibles en este formato.

• **Tiempo establecido para la devolución de resultados de los paneles.** Cada LNR debe determinar el tiempo que establecerá para la devolución de los resultados basados en las condiciones de cada país. Se considera razonable un período de entre 15 días a un mes.

Registro y evaluación de los resultados

En el Anexo C se presentan modelos de formularios y registros para el envío de paneles a los laboratorios y la evaluación e informe de los resultados. Se incluyen:

- el formulario para registrar los resultados obtenidos en la lectura de paneles por parte decada uno de los técnicos evaluados (Anexo C.5)
- las instrucciones para la realización de la prueba (incluido en el Anexo C.5)
- el registro en el laboratorio de referencia de todos los resultados obtenidos por los técnicos participantes de la prueba (Anexo C.4)
- el formulario de informe de resultados del laboratorio evaluado (Anexo C.6)

Para la evaluación de los resultados es necesario considerar los siguientes puntos:

Resolución de discordancias

Ningún sistema de preparación y distribución de paneles está libre de problemas, por lo que el resultado de referencia de cada lámina de un panel debe validarse antes de puntuar a los participantes con el fin de establecer si las discordancias halladas son responsabilidad del lector y/o debidas a problemas en la preparación de los paneles.

Para ello:

• si la logística de la prueba permite la devolución de los paneles junto con el informe de resultados, releer en el LNR todas las láminas discordantes a fin de establecer la responsabilidad de las discordancias.

• si no fuera posible la devolución del panel de láminas al LNR, proceder a la postvalidación de los paneles luego de recibir los resultados de los laboratorios de la red que han sido evaluados. Si el 20% o más de los participantes falla en informar correctamente un extendido, esto puede ser indicativo de problemas en el LNR para la preparación de las láminas. En este caso:

- solicitar a todos los laboratorios participantes que devuelvan los paneles para su relectura. Si luego de la relectura, se confirman los problemas con la preparación de una lámina, ésta debe ser descartada para el informe de resultados de todos los participantes de la prueba.

- Si la devolución de los paneles no fuera posible, tomar la decisión de eliminar una lámina del análisis de resultados si la mayoría de los participantes fallan en el resultado de dicha lámina, salvo que los resultados discordantes se concentren en técnicos de un laboratorio o en microscopistas recién incorporados a la red.

Asignación de puntajes

• Asignar puntajes, considerando el número y tipo de error, siguiendo la clasificación de errores presentada en la Tabla 5 de este manual. La evaluación debe considerar errores mayores y menores. Los errores de cuantificación se consideran errores menores.

Para un panel compuesto por 10 láminas (máximo puntaje; 100), los técnicos recibirán

- 10 puntos por identificar correctamente un extendido negativo (0 BAAR/100 campos);
- 10 puntos por identificar y cuantificar correctamente un extendido como positivo aun cuando haya un número escaso de bacilos (positivos contables);
- 5 puntos por cada error falso negativo bajo o falso positivo bajo;
- 5 puntos para cada lámina positiva con error de cuantificación;
- 0 puntos por cada falso positivo alto o falso negativo alto.

• Considerar que un microscopista tiene suficiente eficiencia cuando obtiene un mínimo de entre 80 y 90 puntos (según lo establezca inicialmente el LNR) y no presenta ningún resultado FPA o FNA. En la medida en que se avance en la mejora de la calidad, la exigencia debe ser incrementada, así como el grado de dificultad de los paneles enviados (por ejemplo, mediante la inclusión de mayor cantidad de extendidos con escasos bacilos).

• Si el laboratorio hubiera recibido paneles coloreados y no coloreados, el laboratorio supervisor analizará cada panel (coloreado y no coloreado) en forma individual, comparará los resultados e interpretará el conjunto decidiendo si los errores se deben a problemas en la coloración y/ o en la lectura. Si los positivos de los extendidos coloreados se informan correctamente, mientras que los errores son sólo en los positivos de las láminas no coloreadas, el problema está en los colorantes o la coloración. Esto puede ser verificado mediante la recoloración y lectura de los extendidos devueltos. Si los errores son identificados en extendidos coloreados y no coloreados, la razón más plausible puede ser la falta de habilidad para reconocer los BAAR o la utilización de un microscopio en mal estado.

• En caso de que el microscopista haya obtenido el puntaje mínimo establecido por el LNR como aceptable, pero presente un resultado FNA o FPA, se recomienda enviar de un nuevo panel a fin de dilucidar si existe un problema de coloración/lectura o si el hallazgo es simplemente por un error administrativo (error al registrar el resultado).

Informe de la prueba de aptitud

• Informar al laboratorio supervisado los resultados de cada lámina, el puntaje obtenido, el número de errores cometidos por tipo de error.

• Indicar, además, las probables causas de error, las sugerencias y recomendaciones para resolver las causas de los errores identificados, considerando para dicho análisis la ocurrencia de errores falsos positivos y negativos en forma separada. Un modelo de dicho informe puede encontrarse en el Anexo C.6.

En la tabla 8, se presentan los tipos de errores más frecuentes hallados, las posibles causas de dichos errores, las interpretaciones y recomendaciones sugeridas para incorporar en el informe de las pruebas de aptitud.

Tabla 8. Posibles causas de errores, interpretación y recomendaciones frente a los hallazgos más frecuentes en las pruebas de aptitud

Tipo de panel	Hallazgos más frecuentes	Posibles causas	Interpretación del hallazgo/ recomendaciones a realizar en el informe de la coloración/lectura del panel
Panel coloreado	Un error FPA o un FNA aislado	- Errores en la transcripción de resultados en el formulario de resultados. - Las mimas causas listadas para el hallazgo de más de un FP (ver debajo).	- Enviar un nuevo panel. - Si el problema persiste luego de la lectura del segundo panel, ver recomendaciones a realizar para el hallazgo de más de un FP (ver debajo).
	Algún FPB o FNB	- Limitación de la técnica de relectura.	- Hallazgo de baja relevancia.
	Presencia de uno o más FPA junto a uno o más FPB	- Microscopio en mal estado que dificulta la diferenciación de artefactos y BAAR. - Falta de entrenamiento apropiado.	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de los errores durante la visita referirse al Anexo B.7.
	Presencia de uno o más FNA junto a uno o más FNB	- Lectura superficial. - Microscopio en condiciones inadecuadas (generalmente luz insuficiente). - Problemas con la coloración. ¿Se decoloraron los BAAR antes de la relectura? Malas condiciones de conservación del panel coloreado. - Falta de entrenamiento apropiado para identificar BAAR.	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de los errores durante la visita referirse al Anexo B.7.
	Varios errores de cuantificación	- Problemas con el microscopio. - Falta de entrenamiento apropiado.	- Solicitar se revise escala de cuantificación normatizada. - Puede ser necesaria una visita para analizar las condiciones del microscopio.
Panel no coloreado	Un error FPA o un FNA aislado	- Las mismas que las listadas para el panel coloreado.	- Las mismas que las listadas para el panel coloreado.
	Algún FPB o FNB	- Limitación de la técnica de relectura.	- Hallazgo de baja relevancia.

	Presencia de uno o más FPA junto a uno o más FPB	- Las mismas que las listadas para el panel coloreado. - Problemas con los colorantes/ coloración (presencia de cristales de colorante primario por falta de filtrado o calentamiento del mismo, falta de decoloración).	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de los errores durante la visita referirse al Anexo B.7.
	Presencia de uno o más FNA junto a uno o más FNB	- Lectura superficial. - Microscopio en condiciones inadecuadas (generalmente luz insuficiente). - Falta de entrenamiento apropiado para identificar BAAR. - Problemas con la preparación de las soluciones de coloración (concentraciones inadecuadas del colorante primario/decolorante / colorante de contraste, uso de soluciones de coloración fuera de la fecha de vencimiento). - Problemas en la técnica de coloración (calentamiento deficiente de la fucsina, tiempo insuficiente de exposición al colorante primario, tiempo excesivo con el colorante de contraste).	- Se requiere una investigación adicional. - Puede ser necesaria una visita de asistencia técnica para dilucidar las causas reales de los errores identificados. Nota: Para revisar las acciones a seguir para establecer las causas de las discordancias durante la visita referirse al Anexo B.7.
	Varios errores de cuantificación	- Las mismas que las listadas con el panel no coloreado. - Problemas con las soluciones de coloración/técnica de coloración.	- Solicitar se revise escala de cuantificación normatizada. - Puede ser necesaria una visita para analizar las condiciones del microscopio/ preparación de colorantes/técnica de coloración.

• Enviar en forma confidencial y a tiempo el resultado a los técnicos participantes. Ejemplos de informes se muestran en el Anexo C.8.

• Registrar los datos de la prueba de cada técnico o laboratorio, a fin de poder realizar una planificación de las visitas técnicas, de la capacitación o adquisición de recursos, de acuerdo al desempeño que hayan demostrado los técnicos/laboratorios.

• Es muy recomendable la realización de visitas a aquellos centros en que se hayan identificado técnicos con puntajes bajos, a fin de reconocer los problemas y poder realizar las recomendaciones correspondientes; la cooperación con los laboratorios intermedios es fundamental para el cumplimiento de estas actividades de terreno. Durante las visitas técnicas se deben investigar todas las posibles fuentes de error. En el Anexo B.7 se presentan las posibles causas de los errores identificados y los pasos sugeridos para identificar los motivos de los hallazgos durante la visita técnica.

• Realizar un informe resumen anual con los resultados obtenidos por los técnicos participantes en las pruebas de paneles. Un ejemplo de dicho informe se puede encontrar en el Anexo C.7.

EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD INDIRECTA DEL CULTIVO

Consideraciones generales

Existe un vacío en las normas internacionales con relación a los métodos a aplicar para este tipo de evaluación. Así, aun cuando no sean de aplicación universal, en esta guía se proponen dos metodologías para la evaluación externa de la calidad técnica de los cultivos:

1. Análisis de indicadores de la calidad del cultivo
2. Evaluación de la calidad de los medios de cultivo a base de huevos y medios líquidos utilizados

1. Análisis de indicadores de la calidad del cultivo

El monitoreo periódico de la calidad a través de los indicadores de desempeño calculados por los laboratorios en el proceso de control de calidad interno, permite detectar procedimientos técnicos que se apartan de la norma, que puedan afectar la calidad del cultivo y por consiguiente la calidad diagnóstica en la red. Es también, un insumo fundamental para la planificación de las visitas técnicas, de la capacitación o adquisición de recursos.

Procedimiento

Recolección de datos:

En el Anexo D.1 se presenta un modelo de formulario para solicitar la información a cada laboratorio de la red que hace cultivo. La frecuencia de recolección mínima debe ser al menos anual para poder realizar un seguimiento individual y general de los laboratorios de la red. En los casos que se requiera analizar alguna situación especial (introducción de nueva metodología; aumento o disminución abrupta e inesperada del número de casos detectados por cultivo), la solicitud podría adecuarse al aspecto que se quiera enfocar (por laboratorio, área geográfica, prevalencia o a nivel nacional) y la frecuencia de la recolección de datos podría ser incrementada.

Análisis de la información

Siguiendo el modelo de los indicadores de control de calidad interno propuesto en el “Manual para el diagnóstico bacteriológico de tuberculosis parte II: cultivo de OPS (2008)”y actualizado según el “Manual de Laboratorio de Micobacteriologia del GLI (2014)” se recomienda realizar el análisis de los siguientes parámetros:

a) Porcentaje de contaminación
b) Relación entre resultados de baciloscopías/ Xpert y cultivos
c) Aporte del cultivo al diagnóstico
d) Análisis de la demora en la producción del informe de resultados

a) Porcentaje de contaminación

Cuando las muestras no son adecuadamente decontaminadas, ya sea porque existe alguna falla durante la fase analítica del cultivo o porque las muestras han sido conservadas en forma inadecuada durante su transporte lo que aumenta su carga bacteriana, el porcentaje de tubos contaminados se incrementa.

El indicador por analizar (que se calcula sobre los cultivos realizados a **las muestras que contienen flora normal, mayoritariamente muestras respiratorias) es el siguiente:**

N° de tubos contaminados *100/ N° total de tubos sembrados

El valor no debe superar al del promedio estimado como normal para el porcentaje de contaminación de tubos en medios sólidos (3-5%) o medios líquidos (8-10%).

Este indicador puede ser analizado teniendo en cuenta el área de cobertura y recorrido de cada sistema de transporte de muestras, el tipo de transporte utilizado (privado-propio), (moto-auto- avión), (con o sin refrigeración), el tiempo del recorrido y la temperatura por área, y las demoras internas de cada laboratorio en el procesamiento de muestras.

b) Relación entre resultados de baciloscopías/ Xpert y cultivos:

Las muestras de diagnóstico con resultado de baciloscopía positivo o de Xpert positivo deben tener normalmente resultado de cultivo positivo. El grado de positividad del cultivo (en escala de cruces) debe normalmente ser igual o mayor al de la baciloscopía (también en escala de cruces).

Este parámetro permite evaluar el procedimiento de cultivo en su totalidad, comenzando por la conservación de la muestra, ya que una muestra baciloscopía positiva o Xpert positivo, puede resultar con cultivo negativo, debido a que los bacilos pudieron haber perdido la viabilidad a causa de las malas condiciones de conservación y transporte. Adicionalmente, evalúa la decontaminación de la muestra y concentración de los bacilos por centrifugación y/o la calidad de los medios de cultivo.

Se aconseja analizar este parámetro separando las muestras cultivadas en medios sólidos o líquidos.

El indicador que se recomienda monitorear es la proporción de muestras baciloscopía positiva o Xpert positivo con cultivo positivo. Para su cálculo se debe contar el número de muestras de diagnóstico con baciloscopía positiva que resultaron cultivo positivo y el número total de muestras de diagnóstico con baciloscopía positiva procesadas por cultivo y aplicar la siguiente fórmula.

N° de muestras de diagnóstico positivas por baciloscopía o Xpert con cultivo positivo*100/ N° de muestras de diagnóstico baciloscopía positivas o Xpert procesadas por cultivo

Los valores esperados son > 95-98%. La exigencia puede incrementarse dentro de este rango a medida que se gestiona una mejoría en la calidad.

c) Aporte del cultivo al diagnóstico

El cultivo es una herramienta fundamental en la eliminación de la TB ya que permite detectar aquellos casos paucibacilares. Sin embargo, su valor depende de la situación epidemiológica, de la población estudiada (la sensibilidad es decreciente para niños o inmunosuprimidos respecto a adultos no inmunosuprimidos) y de la localización de la enfermedad (la sensibilidad es menor para la TB extrapulmonar que para la pulmonar).
Se tienen pautas mas uniformes en relación con la TB pulmonar de adultos. Por tal motivo, para el cálculo de este parámetro se seleccionan los pacientes adultos (no las muestras) con TB pulmonar confirmada bacteriológicamente a partir de muestras respiratorias de diagnóstico.

Los pacientes deben clasificarse en las siguientes categorías utilizando la información recolectada con el formulario que se presenta en el anexo 1, a partir de los ítems:

-B2a cuando se utiliza la baciloscopía como primer diagnóstico:

a. BK (+) y cultivo (+)
b. BK (+) y cultivo no realizado
c. BK (-) y cultivo (+)
d. BK (+) y cultivo (-)
e. BK (+) y cultivo contaminado
f. BK no realizada y cultivo (+)

Aporte del cultivo al diagnóstico $\frac{c}{a + b + c + d + e} \times 100$

-B2b cuando se utiliza el sistema de amplificación cerrado como primera prueba de diagnóstico en reemplazo de la BK

a. Xpert MTB/Rif (+) y cultivo (+)
b. Xpert MTB/Rif (+) y cultivo no realizado
c. Xpert MTB/Rif (-) y cultivo (+)
d. Xpert MTB/Rif (+) y cultivo (-)
e. Xpert MTB/Rif (+) y cultivo contaminado
f. Xpert MTB/Rif no realizada y cultivo (+)

Aporte del cultivo al diagnóstico $\frac{c}{a + b + c + d + e} \times 100$

En el caso que se utilicen ambas metodologías se puede realizar la comparación entre ambos indicadores.

Al igual que con otros indicadores basados en la población, la red debe establecer los valores "normales" para cada metodología, establecimiento, jurisdicción o nación. Dado que el cultivo es más sensible que la baciloscopía y que los métodos de amplificación cerrada, se espera que su aporte al diagnóstico de las formas pulmonares del adulto sea por lo menos de:
- 15-20 % de los casos con confirmación bacteriológica cuando se compara con la baciloscopía

- 10% cuando se utiliza el método molecular cerrado considerando que ambas pruebas (cultivo y método molecular cerrado) se aplican a una poblacion cuya proporción de casos baciloscopía negativa con cultivo positivo es del 20%. Sin embargo, aplicados a poblaciones donde la baciloscopía tiene un rendimiento inferior, como los pacientes VIH positivos, el aporte del cultivo debería ser entre un 15-25% (considerando que la proporción de casos baciloscopía negativa con cultivo positivo es del 50%). Es importante tener en cuenta que, con la utilización del cartucho Ultra, el aporte del cultivo será menor al descripto.

Resumen de las características de los indicadores de calidad de la técnica de cultivo:

Indicadores de calidad	Características
Porcentaje de contaminación (por tubo) Se calcula sobre los cultivos realizados a las muestras que contienen flora normal, respiratorias.	El rango aceptable en medios sólidos es 3-4% y en medios líquidos es 8-10%. **Numerador:** N° de tubos inoculados que están contaminados en un determinado período de tiempo **Denominador:** N° total de tubos que fueron inoculados para cultivo en el mismo período Multiplicar por 100 para expresar en porcentaje
Proporción de muestras baciloscopia positivao Xpert positivo con cultivo positivo Se calcula teniendo en cuenta las muestras de diagnóstico que contienen flora normal, respiratorias.	El rango aceptable de recuperación de cultivos positivos entre muestras respiratorias de diagnóstico con baciloscopia positiva o Xpert positivo es > 95-98%. **Numerador**: Número de muestras de diagnóstico con baciloscopia positiva o Xpert positivo que fueron informadas como cultivo positivo en un período de tiempo **Denominador:** Número de muestras baciloscopia positiva o Xpert positivo cultivadas durante el mismo período Multiplicar por 100 para expresar en porcentaje
Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de TB pulmonar (en relación a la baciloscopia) Se calcula teniendo en cuenta los pacientes adultos (no las muestras) con TB pulmonar confirmada bacteriológicamente a partir de muestras respiratorias.	El rango esperado es que un 15-20 % de los casos con confirmación bacteriológica sean casos con baciloscopia negativa y cultivo positivo. **Numerador:** N° de pacientes con TB pulmonar baciloscopia negativa que fueron reportados como cultivo positivo en un período de tiempo. **Denominador:** N° de pacientes reportados con TB pulmonar por baciloscopia y/o cultivo en el mismo período de tiempo.

Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de TB pulmonar (en relación a la prueba Xpert MTB/RIF o XpertUltra MTB/RIF) Se calcula teniendo en cuenta los pacientes adultos (no las muestras) con TB pulmonar confirmada bacteriológicamente a partir de muestras respiratorias.	El rango esperado es que cerca de un 10% de los casos con confirmación bacteriológica sean casos con Xpert MTB/RIF negativo y cultivo positivo (para una población cuya proporción de casos baciloscopia negativa con cultivo positivo es del 20%). En poblaciones para las cuales la proporción de casos con baciloscopia negativa y cultivo positivo alcanza al 50%(VIH positivos), el aporte del cultivo debería ser entre un 15-25%. Con la utilización del cartucho Ultra, el aporte del cultivo será menor al descripto. **Numerador:** N° de pacientes con TB pulmonar Xpert MTB/RIF o Xpert Ultra MTB/RIF negativos que fueron reportados como cultivo positivo en un período de tiempo. **Denominador:** N° de pacientes con TB pulmonar diagnosticada por Xpert MTB/RIF o Xpert Ultra MTB/RIF y/o cultivo en el mismo período de tiempo.

Los distintos indicadores pueden analizarse realizando las siguientes desagregaciones: por laboratorio, tipo de población estudiada, origen de las muestras que han sido derivadas, método de cultivo empleado y medio de cultivo empleado.

Las causas de valores superiores o inferiores a los esperados para cada uno de los tres indicadores expresados son resumidas en la siguiente tabla:

Indicadores de cultivo y posibles causas de fallas

	Señales de alarma		
	Valor promedio %	**Si es mucho mayor investigar**	**Si es mucho menor investigar**
Aporte del cultivo al diagnóstico bacteriológico	15 – 20% por sobre baciloscopia 10% por sobre el método molecular cerrado	A	B, C, D, E, F, G, H
Porcentaje de tubos contaminados	3-5 % (medio sólido) 8-10% (medio líquido)	C, D, E	F
Proporción de muestras baciloscopía o Xpert positivo con cultivo positivo	95-98%	No hay problema	C, D, E, F, G, H, I

A	• errores de lectura de baciloscopias: “falsos negativos” • errores falsos negativos de la prueba de Xpert MTB/RIF asociados a problemas con la conservación de los cartuchos, mal funcionamiento de los módulos, o del equipo • se está investigando un alto porcentaje de casos de TB pulmonar poco avanzada, incluyendo pediátricos o personas que viven con VIH (no indica problema técnico de laboratorio)
B	• deficiente solicitud de cultivos (no se están investigando los pacientes SR poco avanzados, se están investigando pacientes que no son SR)

C	• excesiva demora entre la toma y procesamiento de las muestras por inconvenientes en la logística de transporte (áreas de recorrido del transporte excesivas, vehículos inadecuados) • muestras conservadas sin refrigeración
D	• concentración de decontaminante más baja que lo normalizado • escaso tiempo de contacto de la muestra con el decontaminante
E	• defectos en el proceso de esterilización • descuidos en procedimientos que requieren esterilidad (mal uso de mechero, uso inadecuado o desperfectos de la cabina de seguridad biológica) • excesivo movimiento de personal en el área de trabajo, generación de corrientes de aire por ventiladores o equipo de aire acondicionado, etc.
F	• decontaminación muy enérgica de las muestras por - concentración del decontaminante más alta que lo normado y/o - tiempo excesivo de contacto con el decontaminante • exceso de verde de malaquita en el medio de cultivo
G	• baja sensibilidad de los medios (falta de homogeneidad, sobrecalentamiento al coagular, pH excesivamente ácido) • incubación de los cultivos a temperaturas muy altas u oscilantes
H	• baja velocidad o sobrecalentamiento en la centrífuga
I	• errores de lectura de baciloscopias: “falsos positivos” • las muestras no corresponden a pacientes estudiados para diagnóstico, sino que son de pacientes en control de tratamiento.

Los datos de cada laboratorio son volcados al Anexo D.2: Formulario de rendimiento de cultivo. Es conveniente que la incorporación de aquellos laboratorios, que realizan cultivo pero que no producen sus propios medios, se realice utilizando el código del laboratorio que le provee medios con un subíndice de manera tal de evidenciar algún problema que relacione con la sensibilidad del medio.

La plantilla D.3 permite reunir y monitorear los indicadores del rendimiento del cultivo con la calidad del medio (evaluada como se explica más adelante) para evidenciar algun tipo de relación entre ellos.

d) Análisis de la demora en la producción del informe de resultados

La notificación oportuna de los resultados es fundamental para el manejo clínico del paciente. El seguimiento del tiempo de emisión de los resultados permite que algunos procedimientos de laboratorio puedan ser optimizados (por ejemplo, el empleo apropiado de los métodos de cultivo rápido y la eliminación de demoras injusticables). Por otro lado, ayuda a identificar desafíos relacionados con los algoritmos del PNT y asociados con el flujo de trabajo de cada laboratorio, sistemas de información y sistemas de informes.

Los indicadores recomendados son los siguientes:

• Nombre: Tiempo para la emisión de informes de muestras procesadas por cultivo en medio sólido

Fórmula: (Nº de informes emitidos a término/ Nº total informes emitidos cuando se utiliza el medio sólido) *100
Criterio de aceptabilidad:Al menos el 95% de los resultados de cultivo deben haber sido informados dentro de los 21 días (baciloscopías positivas y/o Xpert positivo) y dentro de los 63 días (baciloscopías negativas y/o Xpert con detección de trazas o negativos) de procesada la muestra cuando se utiliza el método convencional con medio sólido.

• Nombre: Tiempo para la emisión de informes de muestras procesadas por cultivo en medio líquido

Fórmula: (Nº de informes emitidos a término/ Nº total informes emitidos cuando se utiliza medio líquido) *100
Criterio de aceptabilidad: Al menos el 95% de los resultados de cultivo deben haber sido informados dentro de 8 a 10 días (baciloscopías positivas y/o Xpert positivo) y de los 43 días (baciloscopías negativas y/o Xpert con detección de trazas o negativos) de procesada la muestra con el equipo de lectura automatizada.

Idealmente el tiempo para la emisión de informes debe ser tomado desde la recepción de la muestra, pero esto no siempre se sabe. En el caso de tener esta información, se sugiere analizar los indicadores considerando la demora desde la recepción de la muestra hasta su procesamiento (debe ser entre 24 a 72 hs en el caso de fin de semana), y desde el procesamiento hasta el informe de resultados.

Por otra parte, el laboratorio también debe tener en cuenta la demora del transporte de la muestra, e intentar medirla. Si no se logra medir, al menos se debe discutir con los centros de salud que ese tiempo entre la recolección y la llegada en el laboratorio no puede o no debe ser >24hs.

Para ambos casos también se debe verificar que un porcentaje similar de los cultivos positivos hayan sido informados dentro de las 48 hs de detectadoel desarrollo, o desde que haya sonado la alarma del equipo de lectura automatizada.Los medios sólidos deben ser inspeccionados al menos semanalmente o como mas frecuentemente si la norma lo indica.

• Nombre: Tiempos de envío de informes de cultivo una vez emitidos

Fórmula: (Nº de informes entregados a término/Nº total de informes) *100
Criterio de aceptabilidad: Al menos el 95% de los informes emitidos deben ser enviados dentro de los 2 días y el 100% hasta 5 días después.

Solicitar el seguimiento del indicador del tiempo de respuesta. Ante demoras excesivas se debe investigar las posibles causas y orientar al laboratorio con las posibles soluciones de tipo técnico, administrativo o informático.

Hay varios factores que pueden dar lugar a retrasos, algunos asociados a la organización del trabajo y los recursos disponibles, como la excesiva carga de trabajo en relación con los operadores y equipos disponibles, inadecuada programación de tareas o falta de recursos para el envío rápido de resultados. También pueden estar relacionados con los procedimientos dentro del laboratorio, los cuales deben ser analizados para identificar aquellos que son responsables de las demoras, por ej. demoras en el procesamiento de las muestras, en la lectura de los cultivos, en los registros de resultados, en la preparación del informe, en la entrega de resultados, entre otros. La identificación de las causas puede ser realizada durante una visita de asistencia técnica, para luego reorganizar consecuentemente la actividad.

Informe de la calidad del cultivo

En el Anexo D.4 se presenta un modelo de informe. Este informe surge del análisis de los indicadores de cultivo y las posibles fallas asociadas a sus desvíos durante el período evaluado. En el mismo se debe incorporar un párrafo de observaciones, expresando la situación del laboratorio de ese año. Además, es importante analizar el/los años/s anterior/es para evaluar la tendencia de los distintos parámetros. Es recomendable enfatizar los datos/indicadores/observaciones asociado/as a un rendimiento aceptable o aquellos en los que se ha evidenciado un avance para estimular al personal del laboratorio.

En el Anexo D.4.1 se presenta un ejemplo de evaluación de la calidad del cultivo y las observaciones realizadas y en el Anexo D.4.2 se presenta un ejemplo del seguimineto de estos parámetros a lo largo de los años, de manera tal de poder detectar visualmente los desvíos fortuitos o persistentes que puedan haberse registrado para el laboratorio.

2- Calidad del medio de cultivo sólido y líquido

La sensibilidad de los medios preparados en la red de laboratorios puede tener variaciones notorias en relación con la experiencia, procedimientos calidad de algunos insumos críticos empleados (por ej. los huevos). Es recomendable que una vez al año o cada dos años, dependiendo de la factibilidad y el tamaño de la red, se controle y monitoree la calidad de los medios de cultivo de todos los laboratorios productores de medios a base de huevos (Löwenstein Jensen y Stonebrink) o Middlebrook 7H11/7H10 neutros en una única experiencia, incluyendo a las firmas que comercializan algunos de esos medios preparados o que comercializan sus bases deshidratadas en el país. En los casos que se haga imposible la evaluación general y se detecten valores de los indicadores de calidad del cultivo no aceptables entre varios usuarios del medio preparado por un laboratorio de la red, o de un laboratorio que elabore medios, se puede hacer una evaluación con menor cantidad de lotes del medio de todos los laboratorios involucrados o de un laboratorio junto a varios lotes de medios producidos en el LNR.

Los medios líquidos son elaborados por las empresas productoras con procedimientos estandarizados y reactivos sintéticos. En general, son utilizados por varios laboratorios de la red. Si eventualmente tuvieran mala calidad, se evidenciarían valores no aceptables para el conjunto de esos laboratorios que lo emplean.

Requisitos y recursos necesarios

- Red de laboratorios estructurada.
- LNR que conduzca la experiencia.
- Sistema de transporte para el envío de lotes de medios de cultivo en forma rápida.
- Equipamiento suficiente para el mantenimiento e incubación de los medios (heladeras y estufas de incubación a 37 °C).
- Insumos suficientes para la siembra de los medios (micropipetas, tubos de 50 ml para la preparación del inóculo, pipetas descartables de 2 ml, bandejas para incubar los tubos con inclinacion de 5-10°, cajas de plástico para mantener los tubos en posición vertical, contador de colonias manual).
- Sistemas de comunicación fluidos.
- El laboratorio de referencia debe disponer de los medios necesarios para implementar las medidas correctivas, incluido el reentrenamiento.

Procedimiento

El laboratorio de referencia solicita a los laboratorios productores 12 tubos tomados al azar del lote en uso o recientemente producido.

A la vez recolecta, mediante el Anexo D.5 Formulario Cultivo-Elaborador de medios, la siguiente información:
Marca de los reactivos empleados para la producción.

Procedimiento utilizado para la coagulación (equipo, temperatura y tiempo)

Volumen de producción

Carga de trabajo (número y tipo de muestras cultivadas)

Método de cultivo empleado

Si hay laboratorios que producen para proveer medios a otros laboratorios de la red, es una buena oportunidad para recolectar información sobre esta actividad.

Preparación de la solución para la siembra

• Utilizar una cepa de referencia de *M. tuberculosis* sensible a todas las drogas antituberculosis (puede ser H37Rv) para evaluar la sensibilidad de los lotes de Löwenstein Jensen y Middelbrook 7H10 o 7H11 y una de *M. bovis* para el Stonebrink. Dada la importancia del inóculo en este tipo de evaluación es conveniente tener las cepas de referencia en alícuotas congeladas siguiendo en protocolo presentado en el Anexo D.6. Preparación de alícuotas para el inóculo.

• Realizar una experiencia previa sembrando distintas diluciones de ambas cepas, siguiendo el protocolo presentado en el Anexo D.7. Preparación del inóculo para experiencia previa. Se sugiere registrar los resultados en una planilla similar a la presentada en el Anexo D.8. Ensayo del inóculo. Registro de conteo de colonias. El tamaño de inóculo debe permitir contar colonias con precisión y sin dificultad y, a la vez, identificar lotes de sensibilidad que escapan a la normalidad, sobre todo aquellos de muy baja sensibilidad. Por esta razón se debe tratar de que el mismo tenga 20 a 50 unidades formadoras de colonias (UFC) en el volumen que se siembre por tubo.

• Analizar los resultados del inóculo de los distintos controles realizados a lo largo de los años de manera de ir ajustando el mismo para determinar cúal es la dilución óptima. Para ello se puede confeccionar una planilla como la que se presenta en Anexo D.9. Cuantificación del Inoculo, monitoreo de resultados.

Evaluación de los medios producidos

• Crear un ÚNICO registro. Como ejemplo aquí se describe la forma de diseñar el registro empleando un archivo Excel con todos los datos de la experiencia en distintas solapas. Se sugiere asignarle el nombre “Control de calidad medio de cultivo (mes y año)”.

• Registrar los datos, codificación que se le dio al laboratorio y tipo de laboratorio que envía los medios, en una planilla de Excel como se presenta en el Anexo D.10. Formulario de registro de datos, Parte 1. En la segunda parte del anexo D.10 se muestra la información acerca de los medios recibidos y de los resultados generales del control. En este punto es necesario recalcar que cada laboratorio es identificado con un código de letras o números para mantener la confidencialidad en el estudio. El resto de los datos a completar en esta planilla queda a elección de cada laboratorio.

• Generar, en la segunda solapa del Excel, una lista de números al azar. Mediante

la función ALEATORIO y JERARQUIA que permite crear números aleatorios entre un rango especificado sin tener repeticiones. En una celda escribir la palabra “valores” y debajo **=aleatorio()** y pulsar enter lo que permite generar el primer valor al azar

Valores		
0,85067443		

Extender ese valor hacia abajo generando al azar la cantidad de números que se necesita crear (por ejemplo 1000 celdas)

Valores		
0,41741503		
0,80127728		
0,32358777		
0,96986301		
0,70439186		
0,97580601		
0,93658811		
0,09306927		
0,0871593		
0,28147258		

Colocar en la tercera columna la palabra “números” y debajo **=jerarquía(.**

Seleccionar la primera celda de la columna “valores”, quedando **=jerarquía(A2**

Marcar la columna “valores” desde la celda A2 hasta la celda que se quiera. Inmediatamente apretar F4, cerrar paréntesis quedando **=jerarquía(A2; $A$2:$A$11),**

Pulsar enter y aparece el número entero al azar.

Valores		Número
0,35625902		7
0,17939698		
0,876304		
0,35951495		
0,07473611		
0,37917889		
0,5208717		
0,05528894		
0,88751287		
0,93860532		

Arrastrar desde ese número hacia abajo y aparecen los números al azar.

Valores		Número
0,45184616		7
0,99401154		1
0,75667195		4
0,16828492		9
0,30486436		8
0,89548804		2
0,13944464		10
0,89045938		3
0,58526121		5
0,4637875		6

Dado que los números se cambian instantáneamente, para utilizarlos copiar los números y pegar en otra hoja como pegado especial valores. Esta lista es la que se puede utilizar para asignar números al azar a los tubos recibidos.

- Asignar los números a cada uno de los tubos recibidos.

Asignar al primer tubo de la primera remesa recibida el primer número de la lista de números al azar generada, y así

sucesivamente hasta numerar el tubo 12 de esa remesa. Si se hubiese recibido un número menor, consignar al lado de los números vacantes “no recibido”. El registro que correlaciona cada código con el lote de medio y el laboratorio productor permanece oculto para los operadores que inoculan y leen las siembras de los medios.

Identificar los 12 números correspondientes al primer lote de medio, encabezando la lista (el código de laboratorio que lo preparó, nombre del medio y número de lote), como se muestra en el Anexo D.11. Formulario para la asignación de números al azar a los tubos recibidos para el control de calidad.

Acondicionar en una caja plástica rotulada con el nombre del medio los primeros diez de los 12 tubos recibidos. En la misma caja acondicionar todos los tubos del mismo tipo de medio recibidos.

Guardar en refrigerador (4 -8 °C) todas las cajas hasta el momento de comenzar la experiencia para determinar su sensibilidad.

Utilizar los 2 tubos restantes para controlar:

- aspecto del medio
- pH
- esterilidad

• Copiar, en otra solapa, la lista con los todos números asignados al mismo tipo de medio (Löwenstein Jensen, o Stonebrink, o Middlebrook 7H10, etc.), unos debajo de los otros, sin identificar el laboratorio que los ha preparado.

• Ordenar de menor a mayor de manera tal de poder conocer el número total de tubos de cada medio para inocular, como se puede observar en el ejemplo que se presenta en el Anexo D.12.

• Registrar las características del medio según se muestra en el Anexo D.13. Características del medio recibido de los laboratorios participantes, observando el tubo de cada lote que quedó en doceavo lugar y consignar

- Color

Anotar la intensidad del color del medio (verde claro: VC, verde: V, verde oscuro: VO)

- Homogeneidad

Anotar si existen grumos o burbujas, color no homogéneo dentro de un mismo tubo o en distintos tubos del lote

- Consistencia

Golpear la base del tubo de medio contra la palma de la mano en forma suave.
Anotar si se desintegra fácilmente y si tiene agua en la base del tubo.

- Envasado

Especificar el diámetro y longitud del tubo, si tiene tapa a rosca adecuada.
Corroborar si el pico de flauta ocupa aproximadamente ¾ partes de la longitud del tubo sin tocar la tapa y anotar toda anomalía.

• Registrar el pH y el resultado de la prueba de esterilidad en otra planila según se muestra en el ejemplo del Anexo D.13.

- pH

Tomar el tubo 11 destinado a la toma del pH.
Calibrar el peachímetro.

Colocar el electrodo en la superficie del medio, si es de superficie.
Romper el medio, colocarlo en una placa de Petri e introducir el electrodo entre el medio si el electrodo es común.
Esperar en ambos casos, que el valor aparezca y registrarlo.
Lavar el electrodo con agua destilada antes de proceder nuevamente con el tubo del siguiente lote.
Descartar el tubo utilizado.

- Control de esterilidad
Ubicar el tubo 12 de cada lote en una caja o bandeja.
Incubar a 37 ºC por 48 hs y por otras 48 hs a temperatura ambiente.
Anotar en observaciones del anexo si hubo algún tubo que se haya contaminado a esas temperaturas en ese período.

• Preparar la solución para la siembra siguiendo el protocolo Anexo D.14. Preparación del inóculo para el control (la dilución a preparar es la elegida en la experiencia/s previa/s)

• Sembrar los tubos siguiendo las siguientes instrucciones

- Tomar la caja conteniendo un determinado tipo de medio (LJ o Stonebrink o agar Middlebrook)
- Ordernar los tubos en gradillas por su código, de menor a mayor, garantizando así una ubicación al azar en el orden en que son sembrados.
- Con pipeta de 2 ml sembrar con 0,1 ml de inóculo.
- Descartar la pipeta una vez finalizada la descarga total y tomar una nueva. Esto genera menos riesgo de contaminación.
- Mantener los tubos sembrados con una inclinación aproximada de 15° a 37°C por una a dos semanas.
Comprobar que la siembra fue absorbida y poner en posición vertical a 37°C hasta a lectura final.

• Contar, mediante tres lectores distintos en forma independiente y a ciegas, las colonias desarrolladas en todos los tubos, a los 20 y 60 días de incubación.

Registrar el conteo de cada lector en planillas separadas tal como se presenta en el Anexo D.15. Formulario para el conteo de colonias.

Ingresar los valores de cada lector en la planilla Excel cuyo diseño es mostrado en el Anexo D.16. Formulario para la transcripción de las características del medio, conteo de colonias y análisis de resultados.

Evaluación e interpretación de resultados

Carasterísticas propias del medio
• Evaluar las distintas características del medio.

Valores de pH menores a 6,5 para medios neutros, presencia de burbujas que pueden indicar exceso de calor en la coagulación y/o grumos pueden afectar la calidad del medio. La presencia de un mismo lote con distinta intensidad de verde puede estar evidenciando mala homogeneización o existencia de residuos en los tubos.

Un verde muy oscuro puede estar marcando un exceso de verde de malaquita o un pH muy ácido. Por el contrario, medios amarillos

pueden indicar un defecto de verde de malaquita o pH muy alcalino.
La desintegración fácil del medio puede significar que la temperatura de coagulación no ha sido suficiente; si bien esto no suele afectar la sensibilidad del medio, puede ser no adecuado para el conteo de colonias y la realización de repiques ya que el medio se rompe fácilmente y no permite la distribución correcta de material.

• Contar la cantidad de tubos contaminados coloreando los campos que pertenecen a tubos contaminados de los distintos lotes en el Anexo D.11.

Analizar si la contaminación es al azar, en un lote o sigue una correlación numérica.
Determinar si se debe a un inconveniente propio del medio o de la siembra.

Sensibilidad del medio

• Revisar los valores de los conteos y descartar valores atípicos (lectura de algún lector que escapa a las registradas por los otros dos lectores para un mismo tubo).

• Promediar las lecturas de los 3 lectores correspondientes a los 10 tubos de cada lote. Se obtiene así el número de UFC/tubo que desarrollaron en promedio en cada lote controlado, a los 20 y 60 días de incubación.

• Calcular la media y desvío estandar (DS) de las UFC/tubo obtenidas por cada lote evaluado y cada tipo de medio (LJ, Stonebrink, agar Middlebrook) según se presenta en el Anexo D.16.

• Verificar, para cada lote en particular, que el porcentaje de N° promedio de colonias desarrolladas a los 20 días en relación con el de 60 días sea al menos del 70%. Esto se realiza comparando el desarrollo de los 20 días con relación al obtenido al final de la incubación, a los 60 días.

• Graficar la distribución de promedios de UFC/tubo obtenidos con todos los lotes controlados para cada tipo de medio controlado (LJ neutro, Stonebrink neutro o 7H11). Para ello utilizar el programa Medcal o emplear la formula FRECUENCIA del programa Excel.

• Evaluar que la distribución se aproxima a la normal, para proseguir con los cálculos estadísticos. En caso de que la distribución no se comporte como Normal, es necesario aplicar una transformación para aproximar la distribución a una curva normal. Para ello se puede realizar un análisis de cuartiles o percentiles o utilizar un gráfico Q-Q plot. Existen varios programas estadísticos que facilitan la construcción de este tipo de gráfico.

• Comparar estos parámetros (media y DS) con los calculados para cada lote de medio y clasificar su sensibilidad de la siguiente forma

Buena: si el promedio de UFC/tubo está dentro del rango media +/- 1 DS

Muy buena: si el promedio de UFC/tubo es mayor a media + 1 DS

No aceptable: el promedio de UFC/tubo es menor a media - 1 DS

Todos estos cálculos surgen del mismo formulario del Anexo D.16.

• Verificar, en el caso de que los valores no sean aceptables, si esto puede estar en relación con las características detectadas de los medios que pudieran haber afectado la calidad del mismo, con la marca y fecha de vencimiento de los insumos utilizados en la elaboración del medio o con los procedimientos aplicados para la elaboración o conservación del medio.

Informe

• Elaborar un informe preliminar por laboratorio con los resultados parciales del control del/los medios controlados (ver Anexo D.17. Informe preliminar de resultados de medios). El objetivo de este informe es adelantar resultados parciales de la evaluación, ya que, por las características de la prueba y dependiendo del n° de lotes de distintos tipos de medios que se hayan incluido en el estudio, el informe definitivo, cuya estructura y complejidad veremos a continuación, suele producirse con cierta demora.

• Preparar un segundo informe denominado "final" tal como se muestra en el Anexo D.18. Informe final de resultados de medios.

Presentar los resultados de todos los laboratorios participantes. El informe debe ser preparado de tal manera que cada laboratorio reciba la tabla comparativa de resultados de sensibilidad de la experiencia que incluya todos los servicios participantes con sus códigos correspondientes.

Decodificar sólo el correspondiente al laboratorio al que se remite el informe.

Incluir las características del medio (color, homogeneidad, consistencia, envasado), pH del medio, el desarrollo promedio de UFC de la lectura de 60 días y el resultado de la sensibilidad del medio.

Marcar si hubo inconvenientes en el desarrollo de las colonias entre los 20 y 60 días.

Incorporar, a consideración de cada LNR, un gráfico que muestre la distribución de frecuencias de laboratorios que registraron distintos promedios de conteos de colonias.

En el Anexo D.19. Datos a informar, junto al informe final, se muestra un modelo de informe, que incluye los campos descriptos, los cuales pueden ser fácilmente obtenidos de la hoja de cálculo en Excel mostrada en el Anexo D.16.

Conducta a seguir frente a resultados de calidad no aceptable

Invitar a enviar un nuevo lote de medio a aquellos laboratorios que tuvieron calidad no aceptable de manera tal de realizar nuevamente el control y verificar si el problema se mantiene o fue transitorio/ fortuito.

Seguimiento de la calidad de cada laboratorio

• Monitorear la tendencia de los resultados de cada laboratorio a lo largo del tiempo.

Cuando se constata que un laboratorio produce medios que resultan con baja sensibilidad en dos controles sucesivos se le solicita que

- remita los controles internos de los últimos tres lotes elaborados a fin de analizar si hay información que permita detectar baja sensibilidad del medio.

- no utilice el tipo de medio que resultó reiteradamente no aceptable, ni los distribuya hasta que se compruebe que el laboratorio ha superado los problemas que ocasionaban la pérdida de sensibilidad.

- utilice medios de cultivo del LNR o de otro distrito para que no discontinúe sus tareas.

• Identificar la causa. Si no surge de la información analizada durante el control, es necesaria una visita de asistencia técnica para que se revisen y analicen todos los procedimientos relacionados con la preparación de medio.

• Reentrenar en el método de preparación de medios en caso que fuera necesario.

En el Anexo D.20. Seguimiento de la calidad del medio de cultivo, se presenta un modelo de registro electrónico de seguimiento de la calidad del medio de cultivo en el que se grafican en columnas los promedios de conteos de las colonias obtenidos con cada medio de cultivo preparado por el laboratorio en cuestión en cada uno de los controles efectuados. Se agregan en ese grafico barras, con un punto medio que indica el promedio de UFC/tubo correspondiente al total de lotes evaluados en cada experiencia, y dos extremos que corresponden al intervalo de ± 1 desvio estándar. Complementariamente, también puede ser útil confeccionar un archivo en el que se registren los resultados de la sensibilidad de cada medio de cultivo evaluado categorizados como “Muy bueno/ Bueno/ No aceptable” en relación con el rendimiento del cultivo, utilizando un modelo similar al presentado en el Anexo D.3.

En cada experiencia es conveniente agregar al informe final de la evaluación de la calidad de los medios de cultivo, el monitoreo de la calidad de los medios producidos por el laboratorio durante todo el período en el que ha participado del programa. (Anexo D.21. Informe del seguimiento de la calidad del medio).

EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD INDIRECTA DE LA IDENTIFICACIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* Y PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A DROGAS ANTITUBERCULOSIS

Pruebas de aptitud

Definiciones

Verdaderos resistentes: aislamientos resistentes que son clasificadas como resistentes por el laboratorio que se está evaluando.

Verdaderos sensibles: aislamientos sensibles que son clasificadas como sensibles por el laboratorio que se está evaluando.

Falsos resistentes: aislamientos sensibles que son clasificadas como resistentes por el laboratorio que se está evaluando.

Falsos sensibles: aislamientos resistentes que son clasificadas como sensibles por el laboratorio que se está evaluando.

Sensibilidad: evalúa el acierto en la detección de resistencia a la droga.

$$\text{Sensibilidad:} \quad \frac{\text{Nº de verdaderos resistentes} * 100}{\text{Nº de verdaderos resistentes} + \text{Nº de falsos sensibles}}$$

Especificidad: evalúa el acierto en la determinación de la sensibilidad a la droga

$$\text{Especificidad:} \quad \frac{\text{Nº de verdaderos sensibles} * 100}{\text{Nº de verdaderos sensibles} + \text{Nº de falsos resistentes}}$$

Precisión/Eficiencia /Concordancia: evalúa el acierto en el total de resultados.

$$\text{Concordancia:} \quad \frac{\text{Nº de resultados correctos}}{\text{Nº de aislamientos evaluados}}$$

Reproducibilidad: evalúa la consistencia de los resultados producidos por el laboratorio.

$$\text{Reproducibilidad: } \frac{\text{Nº de cepas con resultados coincidentes de sus duplicados}}{\text{Nº total de cepas evaluadas por duplicado}}$$

PRUEBA DE APTITUD DE PRUEBAS DE SENSIBILIDAD FENOTÍPICAS
Consideraciones generales

En 1994 la OMS creó la Red Laboratorios Supranacionales, red que normaliza y coordina la supervisión externa indirecta de la prueba de sensibilidad en el mundo entero. El número de laboratorios de esta red, crece en la medida en que se detecta la necesidad de establecer un nuevo laboratorio en alguna región del mundo.

La calidad de las pruebas de sensibilidad de los LSN es controlada una vez al año por el laboratorio coordinador de la Red de LSN (actualmente el Instituto de Medicina Tropical de Bélgica). Los LSN repican ese control para los LNRs de los países a los que les prestan asistencia técnica. A su vez, cada LNR debería hacer lo mismo con los laboratorios de la Red Nacional de Laboratorios de su país que realizan prueba de sensibilidad.

La evaluación consiste en la realización de la identificación y prueba de sensibilidad a un panel de aislamientos de *M. tuberculosis* que tienen fenotipos de resistencia seleccionados para poder evaluar, en cada laboratorio, la precisión de los resultados de la prueba de sensibilidad frente a las drogas de primera línea y segunda línea en uso: kanamicina, amicacina, capreomicina y quinolonas (1). Usualmente también se incluye un aislamiento de una micobacteria ambiental de manera tal de evaluar la identificación del microrganismo cuya prueba de sensibilidad se está informando. Dentro de los

(1) La OMS ha publicado recientemente una comunicación rápida sobre los cambios clave en el tratamiento de la TB multirresistente y resistente a RIF. Estos cambios se basan en los resultados de un metanálisis destinado a estimar la asociación entre el éxito del tratamiento con el uso de medicamentos individuales en pacientes con TB multirresistente. En relación al uso de fármacos inyectables de segunda línea, los resultados de este metanálisis mostraron que la kanamicina y la capreomicina se asociaron con peores resultados que los tratamientos sin inyectables de segunda línea. Por lo tanto, la OMS ya no recomienda el uso de kanamicina y capreomicina en los regímenes largos de tratamiento de la TB multirresistente, debido al mayor riesgo de fracaso y recaída. Además, para los programas que usan el régimen estandarizado más corto de TB multirresistente se aconseja reemplazar la kanamicina por amicacina. Reconociendo el hecho de que no será posible alcanzar de inmediato los nuevos estándares de atención de la OMS en cada paciente individual con TB- multirresistente, y que la kanamicina y la capreomicina probablemente se usarán durante la fase de transición, en este manual se incluye la evaluación de la PS para kanamicina y capreomicina con el propósito de proporcionar una guía provisional, tanto para la EEC de pruebas de sensibilidad fenotípicas como para la de los ensayos con sondas en tiras para determinación de sensibilidad a drogas de segunda línea.

aislamientos, se incluyen algunas cepas que se envían por duplicado. Los aislamientos del panel reciben un código asignado al azar, conocido sólo por el laboratorio coordinador de la experiencia.

Una vez que cada LSN ha finalizado el control y cuenta con los resultados, éste prepara el mismo panel o paneles con idéntica composición al recibido desde el LSN de Bélgica para ser distribuido a los LNRs.

Para evaluar a los laboratorios intermedios de las redes de cada uno de los países, que solo realizan pruebas de sensibilidad para INH y RIF, se recomienda a los LNR emplear un panel compuesto por 20 de los 30 aislamientos del panel de la OMS, los que serán seleccionados por los LSN de la región, quienes serán los encargados de comunicar a los LNR cuáles aislamientos deberán ser incluidos en dicha evaluación. La selección de dichas cepas está orientada a evaluar especialmente la capacidad de los laboratorios intermedios para detectar con precisión resistencia a INH y RIF, evitando el incremento de riesgo biológico en lo posible.

Procedimiento

Dado que los laboratorios participantes deben manipular cepas de *M. tuberculosis* multirresistentes y con pre resistencia extendida se debe conocer previamente si el laboratorio cumple con las condiciones para hacerlo. Además, para establecer el número de paneles a enviar a cada laboratorio es necesario conocer las técnicas empleadas en cada servicio para la determinación de la sensibilidad. Por estas razones, solicitar a los laboratorios participantes la remisión (por mail o fax) de una carta firmada por el jefe del laboratorio que contenga las respuestas a las consultas presentadas en el Anexo E.1. Carta preliminar.

En aquellos casos en los que la declaración escrita del responsable del laboratorio no precise que la CSB cuenta con la certificación anual o se compruebe que la misma está vencida o no realizada en los últimos 12 meses, **NO enviar el panel de aislamientos para el control.** En ese caso puede ser útil remitir una nota a las autoridades de la institución de la que depende el laboratorio explicitando el motivo de la no inclusión del servicio en el control y la necesidad de asegurar la certificación de la CSB, no solo para este particular sino, especialmente, para proteger al personal cuando realiza su rutina de trabajo.

Una vez conocido el número de laboratorios en condiciones de participar de la evaluación y el número de técnicas que realiza cada laboratorio para informar un resultado, y teniendo en cuenta que se prepara un panel por cada método utilizado en cada laboratorio para informar los resultados de sensibilidad a drogas antituberculosis, se calcula el total de los paneles que se deben preparar para la evaluación. A este número resultante se le suman 3 paneles, que son preparados como reserva de la prueba, en caso de que ocurra algún inconveniente con la distribución de los mismos a los laboratorios participantes o para realizar verificaciones posteriores en el laboratorio coordinador.

Preparación del panel

Cada panel esta constituido por los mismos aislamientos que el panel recibido del LSN. Usualmente consta de alrededor de 30 cepas de M. tuberculosis para la evaluación de laboratorios que realizan pruebas de sensibilidad a fármacos de primera y segunda línea, y aproximadamente 20 cepas de M. tuberculosis seleccionadas por consenso entre los LSN para ser enviadas a los laboratorios de la red que realizan solamente prueba de sensibilidad a RIF e INH.

• Preparar medio Dubos o Middlebroook 7H9 para fraccionar en 20/30 botellas con aproximadamente 40 ml c/u (dependiendo de la cantidad de paneles a armar).
• Rotular cada botella con el número de cada aislamiento a alicuotar.
• Incubar las botellas conteniendo el medio de cultivo durante 48 hs en la estufa a 37°C para el control de esterilidad.
• Comprobar que el medio no está turbio antes de utilizar.
• Tomar cada aislamiento que se desea incorporar a la prueba de aptitud y proceder de la siguiente forma:

- Preparar un tubo con perlas de vidrio para cada aislamiento. El inóculo debe ser realizado a partir de un cultivo en medio sólido de aproximadamente 15 días, con muy buen desarrollo (nunca utilizar tubos que tengan escaso número de colonias).
- Con un asa bacteriológica raspar toda la superficie con desarrollo bacteriano, evitando tomar medio de cultivo.
- Descargar toda la masa bacilar dentro del tubo con perlas de vidrio, realizando movimientos giratorios del asa sobre las perlas.
- Agregar 1 o 2 gotas de agua estéril, tapar y agitar con vortex por 1 minuto.
- Dejar reposar 5 minutos
- Agregar aproximadamente 1 ml de agua estéril y volver a agitar con vortex 1 minuto.
- Dejar la suspensión en reposo por 15 minutos.
- Tomar con una pipeta pasteur el sobrenadante de las perlitas y descargarlo en los frascos con Dubos o 7H9 rotulados con cada n° de cepa.
- Alicuotar 1ml de cada cepa, en la cantidad de criotubos necesaria para abastecer a todos los laboratorios; estos criotubos deben tener rosca externa, o-ring y capacidad de 2 ml. Se recomienda trabajar en series de 6 a 8 cepas por día para no cometer errores. Separar en cajas los criotubos pertenecientes a una misma cepa para no generar confusión.
- Preparar placas de medio Middlebrook 7H11 y Mueller Hinton e incubar en estufa a 37°C para controlar su esterilidad por 48 hs.
- Tomar al azar un tubo de cada cepa distribuida y sembrar 20 µl en dos placas de medio Middlebrook 7H11 y en otras dos de Mueller Hinton. Se pueden sembrar 6 a 8 cepas por placa en forma puntual y separada una siembra de la otra. Un juego de placas (una de Middlebrook 7H11 y de Mueller Hinton) se incuba a temperatura ambiente y el otro juego a 37°C.
- Dejar los criotubos a 37°C hasta su etiquetado.

- Controlar las placas a las 48 hs para poder evidenciar crecimiento de algún contaminante. En caso de que se observe crecimiento, hacer un extendido para corroborar contaminación. Si el tubo está contaminado tomar otro tubo al azar y volver a realizar el procediendo de siembra en las placas. En caso que nuevamente se observe la contaminación, descartar los criotubos de esa cepa y volver a realizar la suspensión a partir de medio sólido.
- Si no se detecta contaminación, dejar 48hs más en incubación para corroborar que no aparezca una contaminación tardía. En caso que aparezca proceder a descartar los criotubos de esa cepa y comenzar nuevamente como en el punto anterior.
- Generar una lista de números al azar que comprendan una numeración entre 1 a 2000 tal como se especificó en control de medios de cultivo.
- Rotular, una vez descartada la presencia de contaminación, todos los criotubos conteniendo 1 ml del aislamiento siguiendo la lista de números al azar.
- Colocar los tubos correspondientes a cada aislamiento en una caja rotulada con su número, hasta el empaquetamiento de cada panel.
- Apuntar en una planilla excel los números que corresponden a cada cepa según se presenta en el Anexo E.2. Formulario con la codificación de aislamientos por panel.
- Sellar con parafilm cada criotubo y comenzar a armar los paneles.
- Apuntar en la misma planilla de excel el número de panel y el número de tubo de cada cepa que integra el panel.
- Colocar en forma separada cada tubo en bolsa plástica como primer envase de contención.
- Una vez acondicionados los tubos de cada cepa por panel se congelan a -20ºC o a -70ºC hasta su distribución.

• Preparar las planillas para la recolección de la información necesaria que se envia junto a cada panel tal como se presenta en el Anexo E.3. Información solicitada para Control de prueba de sensibilidad.

• Transportar los paneles con las medidas de bioseguridad requeridas para este tipo de material de alto riesgo biológico tal como se recomienda en el manual de cultivo de OPS.

Realización de la prueba de sensibilidad en el laboratorio supervisado

• Realizar un control de contaminación del contenido de cada vial recibido, mediante la realización de un extendido de la suspensión, que deberá ser coloreado mediante la técnica de Ziehl Neelsen.

• Repicar cada suspensión del panel después de confirmar la pureza.

• Realizar la prueba de sensibilidad a ciegas. Debe hacerlo el personal que normalmente la realiza, utilizando el procedimiento operativo estándar que se aplica en la rutina de trabajo del laboratorio.

• Clasificar el resultado en sensible o resistente y emitir el resultado. Debe hacerlo el/los laboratoristas que lo hacen en la rutina de trabajo.

• Anotar todos los resultados obtenidos, aún las repeticiones si las hubo, en una planilla similar a la presentada en el Anexo E.4., pero adaptada con las metodologías utilizadas en cada laboratorio.

• Volcar los resultados en un formulario con características similares al presentado en el Anexo E.3, completar el mismo y enviarlo al laboratorio organizador.

Análisis de los resultados en el laboratorio coordinador de la prueba de aptitud

Una vez que los resultados han arribado al laboratorio coordinador de la prueba, el mismo deberá:

• Repetir la prueba de sensibilidad sólo con aquellos aislamientos cuyos resultados no coincidan con los esperados después de haber recibido las planillas de al menos dos laboratorios evaluados.

• Incorporar a la planilla presentada como Anexo E.5. Información general de los participantes del control, las metodologías utilizadas, información acerca de bioseguridad y fechas de recepción de aislamientos y remisión de resultados.

• Generar una planilla Excel con los campos presentados en el Anexo E.6. Resultados de cepas por droga y volcar los resultados de la siguiente manera:

- Completar los campos de los números originales de las cepas y la ronda a la que pertenecen los resultados.

- Copiar esa hoja tantas veces como drogas a evaluar y darle a cada solapa el nombre de la droga.

- Ingresar el "resultado consenso de la OMS" (el acordado por la mayor parte de los LSN) en el casillero 1 y el porcentaje de ese consenso para cada droga en las distintas solapas para las distintas drogas y marcar con un color las celdas correspondientes a los aislamientos cuyos porcentajes de acuerdo sean menores al 80%.

- Tomar la planilla de resultados de uno de los laboratorios evaluados.

- Seleccionar la solapa del excel correspondiente a la primera droga, por ejemplo: INH.

- Incorporar el nombre del laboratorio evaluado y la metodología aplicada entre paréntesis, (habrá algunos laboratorios que serán evaluados para varias técnicas).

- Incorporar los números de los aislamientos del panel que le son otorgados por el laboratorio organizador.

- Comparar el resultado de laboratorio, para cada cepa y droga, con el resultado consenso de la OMS.

- Ingresar, en la columna G, el número 1 si son coincidentes los resultados o agregar falso sensible (FS) o falso resistente (FR) si es discordante, según el resultado consenso.

- Agregar el número 1 en las columnas H "acierto resistente (R)" o I "sensible (S)", sólo en el caso de resultados concordantes.

- Agregar el número 1 en las columnas J o K "SC" (sin considerar por concordancia menor al 80%) según el resultado haya sido acierto o desacierto, respectivamente pero no deba ser considerado para el análisis debido a su bajo porcentaje de concordancia obtenido por los LSN.

- Para las cepas procesadas por duplicado, agregar en la columna N "par OK" correspondiente a uno de los duplicados, el número 1, si existe coincidencia en los resultados.

- Revisar si los cálculos que se realizan automáticamente de sensibilidad, especificidad, eficiencia/concordancia y reproducibilidad son correctos*. Para ello tener presente las definiciones expresadas al comienzo de la sección.

* Se puede realizar una prueba colocando los resultados como si fueran todos correctos y deberá dar 100 % de sensibilidad, especificidad, eficiencia/ concordancia y reproducibilidad. Luego probar con algún cambio de falsos positivos o negativos y se deberán expresar en cambios en los distintos parámetros.

• Evaluar la demora en el informe de resultados, calculando la diferencia en días entre la llegada del panel al laboratorio a evaluar y el arribo de los resultados al laboratorio coordinador.

• Evaluar la calidad del laboratorio para diferenciar *M. tuberculosis* de otras micobacterias corroborando que la micobacteria ambiental es detectada y que no se ha informado el resultado de la prueba de sensibilidad en esa cepa.

• Clasificar la eficiencia/ concordancia para cada droga teniendo en cuenta las experiencias de los LSN de la región, según se presenta en la siguiente tabla:

Calidad	Concordancia /Eficiencia %	
	INH/ RIF Km/Ak/FQN	EMB/Cm
No aceptable	< 95,0	< 90,0
Aceptable	95,0-97,0	90,0-95,0
Buena	97,1-99,9	95,1-99,9
Excelente	100,0	100,0

• Incorporar los resultados de la precisión por droga y laboratorio en el Anexo E.7.

• Proceder luego a analizar los resultados y posibles causas de cada laboratorio con resultados no aceptables

- Considerar que puede haberse cometido un error en el laboratorio evaluador si para un aislamiento determinado, la discordancia entre los resultados recibidos de los laboratorios controlados es mayor del 80%.

- Verificar el resultado de la repetición de las pruebas realizadas para aquellas cepas en que se identificaron discordancias.

- Verificar que no haya errores en el rotulado de los aislamientos, en la conservación de los paneles, o en la transcripción de resultados.

- Descartar del análisis todo aislamiento que presente una concordancia menor al 80%, salvo que dichas discordancias se concentren en laboratorios que recién comienzan a trabajar o que tienen una historia de resultados no aceptables.

- Analizar la predominancia de falsos sensibles entre las discordancias. Si se encuentran que la mayoría de los errores son falsos sensibles para una o más drogas pensar en que puede haber un exceso de droga en los medios.

- Analizar la predominancia de falsos resistentes. Si se encuentran que la mayoría de los errores son falsos resistentes a una o más drogas pensar en que puede haber un defecto de droga en los medios de cultivo.

Errores falso sensible (FS) y falso resisitente (FR) pueden ser causados por la imprecisión en los procedimientos implementados para la preparación de los medios de cultivo con droga, en las diluciones, siembra, o lectura e interpretación de resultados. Tambien pueden deberse a errores de transcripción. Estos errores pueden ser originados por el cambio de personal.

Todos son errores graves porque pueden estar ocurriendo en la rutina de trabajo. Para explorar estas posibilidades, se puede solicitar al laboratorio controlado información acerca de cambio reciente de personal, los POES que aplica y los registros originales de los resultados de las pruebas de sensibilidad.

- Analizar los resultados de eficiencia/ concordancia para cada droga de cada laboratorio a lo largo de los años para interpretar si los errores identificados son fortuitos o frecuentes.
- Analizar los resultados de la rutina de trabajo para verificar o dilucidar si el error detectado en el control se manifiesta tambien en la rutina de trabajo, o sólo se ha dado en el control de calidad.

• Comunicar los errores detectados y las medidas correctivas a implementar.

• Solicitar al servicio que suspenda la realización de la prueba de sensibilidad, en el caso que se compruebe que el error es reiterado después de la realización de varios paneles, y que se deriven los aislamientos de pacientes con riesgo de resistencia para que sean realizados en el laboratorio de referencia hasta que se retome la calidad de trabajo.

• Visitar el laboratorio para verificar in situ todos los procedimientos relacionados con la prueba de sensibilidad, con especial atención en la pesada de las drogas, las diluciones realizadas, el agregado de las soluciones de drogas al medio de cultivo, la medición del inóculo y la lectura e interpretación de resultados.

Informe:

• Chequear los resultados transcriptos al informe de resultados entre dos personas antes de enviar los informes a los laboratorios evaluados, a fin de prevenir errores en la confección del mismo.

• Emitir un informe con los resultados siguiendo el modelo presentado en el Anexo E.8. Informe de resultados, tratando de comentar los datos positivos, y destacando los avances que se evidencien para estimular el personal del laboratorio.

- Remitir los informes a los distintos laboratorios a medida que se reciben los resultados. Sólo en el caso que se encuentren resultados discrepantes para una misma cepa para los dos o tres primeros resultados recibidos, se deben retener los informes para evaluar si hay algún error en la conformación del panel remitido. En caso que se identifique que el LNR cometió un error en la conformación del panel luego de la emisión del primer informe, se emitirá un segundo informe, indicando el error cometido y retractando los valores del rendimiento obtenido por el laboratorio participante en la prueba de aptitud.

- Emitir, además, un informe con el seguimiento a lo largo de los años de los porcentajes de eficiencia/concordancia de cada laboratorio por método, como se presenta en el Anexo E.9. Seguimiento de la calidad de la prueba de sensibilidad, un modelo de informe.

• Solicitar al laboratorio participante de la evaluación, analizar los resultados presentados en el reporte e informar cualquier error que se detecte o duda que se genere.

PRUEBA DE APTITUD DE PRUEBAS DE SENSIBILIDAD GENOTÍPICAS COMERCIALES

Sistema automatizado cerrado de extracción y amplificación de ADN en tiempo real (Xpert) para la detección de resistencia a rifampicina de *M. tuberculosis* y sistema abierto de amplificación e hibridación reversa (LIPA) para la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida (FL-LPA) o drogas antituberculosis de segunda línea (SL-LPA)

Consideraciones generales

La OMS recomienda la utilización de dos sistemas automatizados, uno cerrado, de extracción y amplificación de ADN en tiempo real (Xpert MTB/RIF) y otro abierto, de amplificación e hibridación reversa (LIPAs (FL-LPA y SL-LPA)), como pruebas de diagnóstico inicial para la detección tanto de la bacteria M. tuberculosis como de la resistencia a RIF (e INH para el caso de las LIPAs), priorizando, en el caso de escenarios con recursos limitados, los sintomáticos con riesgo de resistencia a drogas antituberculosis de primera o segunda línea y los coinfectados con VIH. Además, se recomienda el uso LIPAs para la detección de resistencia a los medicamentos antituberculosis de segunda línea entre los pacientes diagnosticados con TB resistente a la RIF o TB multirresistente. Esta prueba (SL-LPA) permite detectar resistencia a las fluoroquinolonas (como levofloxacina o moxifloxacina) y medicamentos inyectables de segunda línea (kanamicina, capreomicina, amikacina).

Antes de la implementación de éstas es necesario a nivel de país:

- conocer la carga de multirresistencia y resistencia extendida en el área a aplicar la metodología,

- desarrollar algoritmos de trabajo que orienten su empleo complementando los métodos convencionales, según la situación epidemiológica, necesidades y recursos existentes,

- realizar la verificación del método,

- implementar un sistema permanente que permita conocer la calidad de los procedimientos técnicos, resultado e informe de resultados de la prueba diagnóstica.

- implementar de un sistema permanente que permita conocer la calidad de los procedimientos técnicos, resultado e informe de resultados de la prueba diagnóstica.

Sistema automatizado cerrado de extracción y amplificación de ADN en tiempo real (Xpert) para la detección de *M. tuberculosis* y su resistencia a rifampicina

1-Apoyo a la verificación del método

Esta evaluación es ofrecida a los LNR que han implementado el sistema Xpert como complemento de la verificación que se realiza con muestras de la rutina de trabajo en cada uno de los países, en particular para aquellos escenarios donde la incidencia de multirresistencia es baja.

Para apoyar la verificación del método a nivel nacional, el LNR recibirá del LSN un panel con aproximadamente 19 aislamientos de *M. tuberculosis* sensibles y resistentes a RIF (portando las mutaciones más frecuentes que codifican esas resistencias) y al menos un aislamiento de una micobacteria ambiental. Algunos de los aislamientos a incorporar serán enviados por duplicado. Dicho panel estará constituido por suspensiones bacilares inactivadas conteniendo alrededor de 5000 bacilos/ml (*). Junto con el panel, se enviará el Anexo F.2 "Información solicitada para control de prueba de sensibilidad", que contiene instrucciones para la realización de la prueba, la lista con los números de suspensiones que corresponden a cada panel y un cuestionario acerca de las características de la experiencia local de validación del sistema, dificultades encontradas en la implementación del sistema y resultados obtenidos en condiciones de rutina.

Una vez recibido el panel, el LNR deberá:

- Realizar la prueba siguiendo el procedimiento operativo estándar aplicado en el laboratorio participante.

- Asignar la ejecución de la prueba de aptitud al/los operador(es) responsables de la realización de la técnica en la rutina de trabajo.

(*) Nota: En la actualidad, no existe una recomendación internacional acerca de la metodología para la EEC del sistema Xpert MTB/RIF. La composición de los paneles propuestos para esta EEC consiste en suspensiones bacilares inactivadas por calor, cuya utilidad ha sido evaluada por los LSN de la región (ver anexo F1.Preparación de susupensiones de micobacterias inactivadas). Internacionalmente, se encuentran en estudio distintos paneles, algunos basados en suspensiones bacilares inactivadas por calor o químicamente, otros consistentes en muestras de ADN. Algunas presentaciones son en forma líquida y otras han sido liofilizadas. Las experiencias internacionales harán posible evaluar prospectivamente la utilidad de estos sistemas, permitiendo seleccionar aquellos que demuestren mayores ventajas operativas (similitud a una muestra clínica, facilidad en su producción, estabilidad y seguridad en el transporte). Así, los LSN de la región, en acuerdo con las recomendaciones internacionales para el desarrollo de la EEC de esta metodología, podrán modificar las características de la conformación de los paneles, sin que ello afecte las condiciones generales de la ejecución e interpretación de la prueba.

• Asignar el análisis e informe de los resultados a los laboratoristas que emiten los informes habitualmente.

• Volcar los resultados en el Anexo F.2, clasificados de la siguiente forma:

Resultado	Interpretación	Reporte
MTB no detectado	Negativo. Repetir la prueba con una nueva muestra	**N**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina no detectada	Positivo para tuberculosis, sin resistencia a Rifampicina	**T**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina detectada	Positivo para tuberculosis,con resistencia a Rifampicina	**RR**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina indeterminada	Indeterminado. Repetir la prueba con una nueva muestra	**TI**
MTB detectada (trazas), resistencia a Rifampicina indeterminada	Indeterminado. Repetir la prueba con una nueva muestra	**TT***
Inválido/Sin resultado/Error	Inválido. Repetir la prueba con una nueva muestra	**I**
***Sólo para utilizar en el caso de cartuchos ULTRA**		

• Informar, ante el resultado invalidado, el tipo de fallo ocurrido
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=37760&Itemid=270&lang=es)

- 5006/5007/5008 (Control de sonda falló y la prueba fue cancelada antes de la amplificación),
- 5011 (Baja señal en la curva de amplificación),
- 2008 (Excesiva presión sobre el cartucho),
- 2127 (Falta de comunicación del módulo),
- 2037 (Falta de integridad en el cartucho),
- 2014/3074/3075/1011 (Inconvenientes de temperatura).

• Informar, clasificando la reacción por el número de ciclos requeridos para alcanzar el resultado positivo, la cantidad de ADN en la muestra(*)

- Alta (menos de 16 ciclos),
- Medio (de 16 a 22 ciclos),
- Baja (23-28 ciclos),
- Muy baja (más de 28 ciclos),
- Trazas (menos de 37 ciclos para el cartucho ULTRA)

(*) Para la interpretación de resultados, consultar el módulo 7 en la siguiente dirección electrónica
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=37758&Itemid=270&lang=es

• Completar el resto de las preguntas del Anexo F.2 y enviarlo al LSN, quien será el encargado de realizar y enviar un informe (ver modelo en el Anexo F.3.Informe de resultados) conteniendo los siguientes tópicos:

• Resultados de sensibilidad, especificidad, precisión y reproducibilidad obtenidos en la prueba de aptitud. Para cada aislamiento se considerarán como válidos los resultados informados por el LSN del Instituto de Medicina Tropical de Bélgica en relación con i) la identificación de M. tuberculosis; ii) presencia y tipo de mutación en la región del gen rpoB explorada o ausencia de mutación. En base a los resultados reportados se evaluará además la posibilidad de contaminación cruzada.

• Resultados de la experiencia de validación local de método en el país:

- precisión del método

- análisis de los principales errores/resultados inválidos reportados, posibles causas y recomendaciones para evitar la ocurrencia de los errores y resultados inválidos identificados.

- estimación de los indicadores de desempeño: % de errores, % de resultados inválidos y % de muestras sin resultados; considerándose como valores de referencia las siguientes proporciones:

Indicador	Descripción	Valor aceptable
Número y proporción de errores	Número de errores/ Total de muestras testeadas	<3%
Número y proporción de resultados inválidos	Número de resultados inválidos/ Total de muestras testeadas	<1%
Número y proporción de muestras sin resultados	Número de muestras sin resultado/ Total de muestras testeadas	<1%

2- Control de calidad externo de los LNR y los laboratorios de la red usuarios del Xpert

Para esta prueba de aptitud, los LNR recibirán del LSN un panel compuesto por suspensiones bacilares inactivadas para la evaluación de la prueba en su propio laboratorio y en los laboratorios de la red de cada país que tengan implementado el sistema. Para el caso de la evaluación de los laboratorios locales de la red, el LNR recibirá junto a los paneles de suspensiones bacilares inactivadas, un listado conteniendo información acerca de la

presencia/ausencia de mutaciones en las suspensiones bacilares bacilares remitidas, según lo reportado por el LSN Bélgica (Anexo F.4; Ejemplo de lista de suspensiones bacilares inactivadas remitidas al LNR del país XX para la confección de los paneles para las pruebas de aptitud); dicha información deberá ser utilizada para analizar los resultados obtenidos por los laboratorios locales y calcular la precisión diagnóstica en cada uno de los servicios participantes.

En relación al número de suspensiones bacilares a incluir en un panel, hay que considerar que éste debería ser lo suficientemente grande para que el ejercicio fuera estadísticamente preciso para la evaluación de la calidad. Sin embargo, la cantidad de muestras necesarias para cumplimentar con este requerimiento agregaría una gran carga de trabajo a la rutina del servicio e insumiría una cantidad de recursos económicos difíciles de afrontar para el laboratorio que se está evaluando. La mayoría de los sistemas desarrollados para la EEC mediante pruebas de aptitud de métodos moleculares de detección de resistencia en el mundo (véase Scott y col. J. Clin. Microbiol. 2014. 52: 2493-2499, Nikolayevskyy y col, PLOS ONE 2016; DOI:10.1371/journal.pone.0152926) contienen menos de 5 muestras/panel. En este manual se propone la evaluación de paneles con 5 muestras sólo para detectar errores graves. Si los recursos lo permiten, es aconsejable, a fin de aumentar la validez de la evaluación, realizar este ejercicio al menos dos veces en el año (utilizando muestras distintas en cada uno de los paneles), lo que incrementa la confianza en los resultados.

Preparación del panel

Para preparar los paneles de suspensiones bacilares para el control de calidad a los servicios de la red de laboratorios de cada país, el LNR deberá proceder de la siguiente manera:

- Calcular el número de laboratorios de la red que van a ser evaluados por el LNR.

- Preparar los paneles partiendo de las suspensiones enviadas por el LSN cuya concentración bacilar será de aproximadamente 50 000 bacilos/ml. Para ello seguir las instrucciones que figuran en el anexo F.5. Ejemplo para la preparación de paneles para el control de calidad. Este ejemplo ha sido preparado para un LNR cuyo número de laboratorios a evaluar sea igual o menor a 15. El procedimiento deberá ser ajustado, según el número de laboratorios a evaluar.

- Adjuntar en forma externa a cada panel el Anexo F.6. Formulario para control de calidad externa.

Metodología a aplicar en los laboratorios periféricos a controlar

Una vez que los laboratorios locales han recibido el panel y el formulario del Anexo F.6, deberán seguir las siguientes instrucciones:

- Realizar la prueba siguiendo el procedimiento operativo estándar aplicado en el laboratorio participante.

• Asignar la ejecución de la prueba de aptitud al/los operador(es) responsables de la realización de la técnica en la rutina de trabajo.

• Asignar el análisis de los resultados a aquel laboratorista que realiza el análisis de los resultados y emite habitualmente los informes.

• Volcar los resultados en forma estandarizada empleando el Anexo F.6, clasificados de la siguiente forma:

Resultado	Interpretación	Reporte
MTB no detectado	Negativo. Repetir la prueba con una nueva muestra	**N**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina no detectada	Positivo para tuberculosis, sin resistencia a Rifampicina	**T**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina detectada	Positivo para tuberculosis,con resistencia a Rifampicina	**RR**
MTB detectada, resistencia a Rifampicina indeterminada	Indeterminado. Repetir la prueba con una nueva muestra	**TI**
MTB detectada (trazas), resistencia a Rifampicina indeterminada	Indeterminado. Repetir la prueba con una nueva muestra	**TT***
Inválido/Sin resultado/Error	Inválido. Repetir la prueba con una nueva muestra	**I**
***Sólo para utilizar en el caso de cartuchos ULTRA**		

• Informar, ante el resultado invalidado, el tipo de fallo ocurrido
http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=37760&Itemid=270&lang=es)

- 5006/5007/5008 (Control de sonda falló y la prueba fue cancelada antes de la amplificación),
- 5011 (Baja señal en la curva de amplificación),
- 2008 (Excesiva presión sobre el cartucho),
- 2127 (Falta de comunicación del módulo),
- 2037 (Falta de integridad en el cartucho),
- 2014/3074/3075/1011 (Inconvenientes de temperatura).

• Informar, clasificando la reacción por el número de ciclos requeridos para alcanzar el resultado positivo, la cantidad de ADN en la muestra (*)

- Alta (menos de 16 ciclos),
- Medio (de 16 a 22 ciclos),
- Baja (23-28 ciclos),

- Muy baja (más de 28 ciclos),
- Trazas (menos de 37 ciclos para el cartucho ULTRA)

b) (*) Para la interpretación de resultados, consultar el módulo 7 en la siguiente dirección electrónica http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=37758&Itemid=270&lang=es

• Completar el resto de las preguntas del Anexo F.6 y enviarlo al laboratorio organizador.

Interpretación y análisis de resultados en el coordinador (LNR)

• Analizar la calidad de los laboratorios, mediante un sistema de puntuación y un puntaje por encima del cual se considera que el servicio tiene un rendimiento aceptable. Es importante considerar que cada programa debe determinar qué es un desempeño aceptable, atendiendo que la definición de un rendimiento aceptable puede ser modificada en base a la experiencia con pruebas de aptitud en cada país y a la madurez que desarrolle el país en la implantación de la prueba.

• Considerar como válidos los resultados informados por el LSN Bélgica en relación con i) la identificación de *M. tuberculosis*; ii) presencia y tipo de mutación en la región del gen *rpo*B explorada o ausencia de mutación, que han sido remitidos junto con el panel de suspensiones por el LSN.

• Interpretar y analizar los resultados teniendo en cuenta el siguiente sistema de puntaje:

- Asignar un valor de 20 puntos por cada suspensión correctamente informada, lo que daría un puntaje general de 100 puntos si el total de resultados fuera correcto. Se considerará como rendimiento aceptable aquellos servicios que obtengan un puntaje de 80 o más sin tener un falso resistente o falso sensible.

- Determinar la puntuación considerando los siguientes criterios:

Tabla 9. Sistema de evaluación propuesto para la determinación del puntaje obtenido para cada muestra de bacilos enviados en la prueba de eficiencia

Resultado esperado: MTB detectado Resistencia a rifampicina no detectada	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a rifampicina no detectada	20
MTB detectado Resistencia a rifampicina detectada	0
MTB detectado Resistencia a rifampicina indeterminada	10
MTB no detectado	0
No válido/sin resultado/error	0

Resultado esperado: MTB detectado Resistencia a rifampicina detectada	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a rifampicina no detectada	0
MTB detectado Resistencia a rifampicina detectada	20
MTB detectado Resistencia a rifampicina indeterminada	10
MTB no detectado	0
No válido/sin resultado/error	0
Resultado esperado: MTB no detectado	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a rifampicina no detectada	0
MTB detectado Resistencia a rifampicina detectada	0
MTB detectado Resistencia a rifampicina indeterminada	0
MTB no detectado	20
No válido/sin resultado/error	0

• Repetir la prueba por parte del laboratorio coordinador (LNR) para aquella/s suspensión/es en las que más del 80% de los participantes hubieran obtenido un resultado no acertado.

• Generar una planilla Excel con los campos presentados en el Anexo F.7. y comenzar a volcar los resultados de la siguiente manera:

- Completar los campos de los números originales de las cepas y número de la ronda a la que pertenecen los resultados.

- Ingresar la presencia o no de mutación en la cepa según el resultado de la secuenciación informado por el LSN en el casillero 1.

- Tomar la planilla de resultados de uno de los laboratorios evaluados

- Incorporar el nombre del laboratorio evaluado.

- Incorporar el número de la cepa que le fue otorgado por el laboratorio organizador.

- Ingresar, en la columna G "2", el puntaje obtenido para cada suspensión enviada según la tabla "Sistema de evaluación propuesto" que otorga puntajes de 0 a 20 según la ocurrencia o no de coincidencia de los resultados obtenidos respecto a los resultados consenso.

- Revisar si los cálculos que se realizan automáticamente son correctos.

• Evaluar el rendimiento del laboratorio en esta prueba.

• Evaluar la calidad del laboratorio para diferenciar *M. tuberculosis* de otras micobacterias corroborando que la micobacteria ambiental no fue detectada como *M. tuberculosis.*

• Analizar los resultados inválidos generado por las siguientes causas:

- el control de procesamiento de la muestra (SPC) no superó el criterio de aceptación,
- la muestra no fue bien procesada,
- la PCR fue inhibida.

• Analizar los resultados inconsistentes o imprecisos de la rutina surgidos por problemas con el equipo y cartuchos con errores como lo expresa la pregunta 2 del Anexo F.7 para tratar de orientar posibles fallas técnicas o administrativas.

• En base a los errores o desaciertos respecto a los resultados de la rutina de trabajo se evalúa el desempeño del laboratorio, la posible contaminación cruzada y el rendimiento del equipo en cada laboratorio. Los principales puntos a evaluar son los siguientes:

Indicador	Descripción	Valor aceptable
Número y proporción de errores	Número de errores/ Total de muestras testeadas	<3%
Número y proporción de resultados inválidos	Número de resultados inválidos/ Total de muestras testeadas	<1%
Número y proporción de muestras sin resultados	Número de muestras sin resultado/ Total de muestras testeadas	<1%

• Considerar los ítems 5, 6, 7 y 8 presentados en el anexo F.6 y analizar sus respuestas

Preparación del informe de resultados

• Chequear los resultados transcriptos al informe de resultados entre dos personas antes de enviar el informe a los laboratorios evaluados a fin de prevenir errores en la confección del mismo.

• Emitir un informe con los resultados, tratando de comentar los datos positivos, y destacando los avances que se evidencien para estimular el personal del laboratorio.

• Remitir los informes a los distintos laboratorios a medida que se reciben los resultados. Sólo en el caso que se encuentren resultados discrepantes para una misma cepa para los dos o tres primeros resultados recibidos, se deben retener los informes para evaluar si hay algún error en la conformación del panel remitido y repetir la prueba utilizando la suspensión de los aislamientos que ha sido conservada a -20°C como resguardo del panel.

• Si luego de la repetición de la prueba, se determina que el LNR cometió un error en la conformación del panel luego de haber emitido un primer informe con los resultados de las pruebas de aptitud para algunos laboratorios de la red, se procederá a informar este hallazgo en un segundo informe.

• Emitir, además, una observación de las preguntas realizadas en el cuestionario.

En caso de que la calidad sea no aceptable, analizar con el laboratorio las posibles causas de los errores y realizar una visita técnica para identificar las razones de los resultados anómalos y aplicar las medidas correctivas correspondientes.

Sistema abierto de amplificación e hibridación reversa (LIPA) para la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida o a drogas antituberculosis de segunda línea

1- Apoyo a la verificación del método

Esta evaluación será ofrecida a los LNR que hayan implementado el sistema LIPAs (FL-LPA o SL-LPA) como complemento de la verificación que se realice con muestras de la rutina de trabajo, en particular para aquellos países donde la incidencia de multirresistencia o resistencia extrema sea baja.

Si bien la verificación de esta metodología puede realizarse utilizando las cepas del panel enviado para la EEC de pruebas fenotípicas, resulta más adecuado, sobre todo cuando se utiliza esta metodología a partir de muestras de esputo, seguir las indicaciones que a continuación se detallan dado que las concentraciones de ADN del panel que se prepara siguiendo esta metodología se asemejan a las que pueden encontrarse en las muestras de esputo.

Para apoyar la verificación del método a nivel nacional, el LNR recibirá del LSN un panel con aproximadamente 19 aislamientos inactivados de *M. tuberculosis* sensibles y resistentes a los distintos fármacos que investiga el sistema (portando las mutaciones más frecuentes que codifican esas resistencias) y al menos un aislamiento de una micobacteria ambiental. Algunos de los aislamientos a incorporar serán enviados por duplicado. Dicho panel estará constituido por suspensiones bacilares inactivadas conteniendo alrededor de 5000 bacilos/ml (*). Junto con el panel, se enviará el Anexo G.1 “Información solicitada para control de prueba de sensibilidad”, que contiene instrucciones para la realización de la prueba, la lista con los números de suspensiones que corresponden a cada panel y un cuestionario acerca de las características de la experiencia local de validación del sistema, dificultades encontradas en la implementación del sistema y resultados obtenidos en condiciones de rutina.

(*) Nota: En la actualidad, no existe una recomendación internacional acerca de la metodología para la EEC del sistema FL-LPA y SL-LPA. La composición de los paneles propuestos para esta EEC consiste en suspensiones bacilares inactivadas por calor, cuya utilidad ha sido evaluada por los LSN de la región (ver anexo F.1). Internacionalmente, se encuentran en estudio distintos paneles, algunos basados en suspensiones

bacilares inactivadas por calor o químicamente, otros consistentes en muestras de ADN. Algunas presentaciones son en forma líquida y otras han sido liofilizadas. Las experiencias internacionales harán posible evaluar prospectivamente la utilidad de estos sistemas, permitiendo seleccionar aquellos que demuestren mayores ventajas operativas (similitud a una muestra clínica, facilidad en su producción, estabilidad y seguridad en el transporte). Así, los LSN de la región, en acuerdo con las recomendaciones internacionales para el desarrollo de la EEC de esta metodología, podrán modificar las características/ procedimientos para la conformación de los paneles, sin que ello afecte las condiciones generales de la ejecución e interpretación de la prueba.

Una vez recibido el panel, el LNR deberá:

- Realizar la prueba siguiendo el procedimiento operativo estándar aplicado en el laboratorio participante.

- Asignar la realización de la prueba al/los operador(es) responsables de la ejecución de la técnica en la rutina de trabajo.

- Asignar el análisis e informe de los resultados a los laboratoristas que emiten los informes habitualmente, quienes deberán leer e interpretar los resultados alineando las tiras con el instrumento provisto por el fabricante, considerando los siguientes criterios:

  - Validar los resultados de la prueba mediante la observación de la presencia de las bandas CC (control conjugado) y AC (control de amplificación) para cada muestra (cuando se detecta ADN en la muestra ensayada (resultado positivo), la señal del AC puede ser débil e incluso desaparecer, debido a la competencia con el ADN de la muestra durante la amplificación, sin que ello invalide el ensayo).

  - Considerar que la ausencia de la banda AC en caso de una prueba negativa, indica errores durante la amplificación o la presencia de inhibidores en la muestra, lo que indica que el ensayo no es válido y se debe repetir la prueba con la muestra correspondiente.

  - Corroborar la presencia de las bandas T*UB*, locus *rpo*B, *kat*G e *inh*A para el sistema FL-LPA o de los locus *gyr*A, *gyr*B, *rrs* y *eis*, para el sistema SL-LPA (indica que el sistema ha detectado Complejo *M tuberculosis* y una región de cada gen).

  - Corroborar la presencia de una mutación en el gen (*) (evidenciada por la ausencia de banda de tipo silvestre con o sin la presencia de una banda mutante para cada grupo de genes).

(*) Para que los resultados sean válidos, las bandas deben ser de intensidad igual o mayor a la intensidad de la banda AC. Como excepción, para el sistema FL-LPA, se ha recomendado que la banda *rpo*B WT8 debe ser considerada positiva aun cuando sea más débil que la AC si, simultáneamente, no aparece la banda correspondiente a la mutación *rpo*B MUT3.

  - Corroborar que en el control negativo se observa sólo la presencia de banda CC y AC, pero que no es visible ninguna otra banda.

  - Considerar como resultado inválido cuando no aparecen las bandas CC y AC en una muestra negativa o cuando en el control negativo, aparecen otras bandas

distintas a las correspondientes a AC y CC.

- Considerar como resultado indeterminado cuando para un fármaco específico o un grupo de fármacos, el correspondiente control de locus se halla ausente mientras que la prueba es válida (es decir el Control de conjugado y la banda TUB están visibles con o sin el control de amplificación).

• Analizar los resultados de cada muestra considerando la presencia/ausencia de las siguientes bandas:

FL-LPA		
Banda	Presente	Ausente
CC		
AC		
TUB		
rpoB salvaje		
rpoB mutado		
katG salvaje		
katG mutado		
inhA salvaje		
inhA mutado		

SL-LPA		
Banda	Presente	Ausente
CC		
AC		
TUB		
rrs salvaje		
rrs mutado		
eis salvaje		
eis mutado		
gyrA salvaje		
gyrA mutado		
gyrB salvaje		
gyrB mutado		

• Volcar los resultados finales en forma estandarizada empleando el formulario que se presenta en el Anexo G.1.

• Consultar en caso de necesidad, para la interpretación de resultados, la siguiente dirección electrónica http://www.stoptb.org/wg/gli/TrainingPackage_LPA o http://www.who.int/tb/publications/lpa-mdr-diagnostics/en/

• Completar el resto de las preguntas del Anexo G.1. y enviarlo al LSN, quien será el encargado de realizar y enviar un informe (ver modelo en el Anexo G.2.Informe de resultados) conteniendo los siguientes tópicos:

• resultados de sensibilidad, especificidad, precisión y reproducibilidad obtenidos en la prueba de aptitud. Para cada aislamiento se considerarán como válidos los resultados informados por el LSN del Instituto de Medicina Tropical de Bélgica en relación con i) la identificación de *M. tuberculosis*; ii) presencia y tipo de mutación en la región del gen *rpo*B explorada o ausencia de mutación. En base a los resultados reportados se evaluará además la posibilidad de contaminación cruzada.

• Resultados de la experiencia de validación local de método en el país:

- precisión del método
- estimación de la proporción de resultados no interpretables (resultados inválidos y no determinados) considerándose como valor de

referencia aceptable un porcentaje menor al 5%. Para su cálculo se empleará la siguiente fórmula:

Indicador	Descripción	Valor aceptable
Número y proporción de resultados no interpretables	Número de resultados no interpretables/ Total de muestras testeadas	<5%

Los resultados son no interpretables cuando corresponden a los resultados inválidos o a los no determinados. Esto es cuando la prueba resulta inválida porque no aparecieron los controles CC y AC, en una muestra negativa o para el caso del control negativo porque aparecieron bandas distintas a AC y CC o cuando la prueba resulta indeterminada porque los controles indican que la prueba es válida(es decir aparecen las bandas CC y TUB, con o sin la presencia de la banda AC en una muestra positiva), pero las bandas que indican la presencia o ausencia de mutaciones no pueden ser interpretadas, porque está ausente el control del locus para un fármaco o grupo de fármacos.

2- Control de calidad externo de los LNR y los laboratorios de la red usuarios del LIPA para la detección de resistencia drogas antituberculosis de primera o segunda línea

Para esta prueba de aptitud, los LNR recibirán del LSN un panel compuesto por suspensiones bacilares inactivadas para la evaluación de la prueba en su propio laboratorio y en los laboratorios de la red de cada país que tengan implementado el sistema. Para el caso de la evaluación de los laboratorios locales de la red, el LNR recibirá junto a los paneles de suspensiones bacilares inactivadas, un listado conteniendo información acerca de la presencia/ausencia de mutaciones en las suspensiones bacilares remitidas, según lo reportado por el LSN Bélgica (Anexo G.3; Ejemplo de lista de suspensiones bacilares inactivadas remitidas al LNR del país XX para la confección de los paneles para las pruebas de aptitud); dicha información deberá ser utilizada para analizar los resultados obtenidos por los laboratorios locales y calcular su precisión diagnóstica.

En relación al número de suspensiones bacilares a incluir en un panel, hay que considerar que éste debería ser lo suficientemente grande para que el ejercicio fuera estadísticamente preciso para la evaluación de la calidad. Sin embargo, la cantidad de muestras necesarias para cumplimentar con este requerimiento agregaría una gran carga de trabajo a la rutina del servicio e insumiría una cantidad de recursos económicos difíciles de afrontar para el laboratorio que se está evaluando. La mayoría de los sistemas desarrollados para la EEC mediante pruebas de aptitud de métodos moleculares de detección de resistencia en el mundo (véase Scott y col. J. Clin. Microbiol. 2014. 52: 2493-2499, Nikolayevskyy y col, PLOS ONE

2016; DOI:10.1371/journal.pone.0152926) contienen menos de 5 muestras/panel. En este manual se propone la evaluación de paneles con 5 muestras sólo para detectar errores graves. Si los recursos lo permiten, es aconsejable, a fin de aumentar la validez de la evaluación, realizar este ejercicio al menos dos veces en el año (utilizando muestras distintas en cada uno de los paneles), lo que incrementa la confianza en los resultados.

Preparación del panel

Para preparar los paneles de suspensiones bacilares para el control de calidad a los servicios de la red de laboratorios de cada país, el LNR deberá proceder de la siguiente manera:

- Calcular el número de laboratorios de la red que van a ser evaluados por el LNR.

- Preparar los paneles partiendo de las suspensiones enviadas por el LSN cuya concentración bacilar será de aproximadamente 50 000 bacilos/ml. Para ello seguir las instrucciones que figuran en el anexo F.5. Ejemplo para la preparación de paneles para el control de calidad. Este ejemplo ha sido preparado para un LNR cuyo número de laboratorios a evaluar sea igual o menor a 15. El procedimiento deberá ser ajustado, según el número de laboratorios a evaluar.

- Adjuntar en forma externa a cada panel el Anexo G.4. Formulario para control de calidad externo.

Metodología a aplicar en los laboratorios periféricos a controlar

Una vez que los laboratorios locales han recibido el panel y el formulario del Anexo G.4, deberán seguir las siguientes instrucciones:

- Realizar la prueba siguiendo el procedimiento operativo estándar aplicado en el laboratorio participante.

- Asignar la ejecución de la prueba de aptitud al/los operador(es) responsables de la realización de la técnica en la rutina de trabajo.

- Asignar el análisis de los resultados a aquel laboratorista que realiza el análisis de los resultados y emite habitualmente los informes, utilizando el instrumento provisto por el fabricante para alinear las tiras y empleando los criterios descriptos anteriormente en el apartado “Realización de la prueba de sensibilidad en los LNR” (apoyo a la validación del ensayo)

- Analizar los resultados de cada muestra considerando la presencia/ausencia de las siguientes bandas:

FL-LPA		
Banda	Presente	Ausente
CC		
AC		
TUB		
rpoB salvaje		
rpoB mutado		
katG salvaje		
katG mutado		
inhA salvaje		
inhA mutado		

SL-LPA		
Banda	Presente	Ausente
CC		
AC		
TUB		
rrs salvaje		
rrs mutado		
eis salvaje		
eis mutado		
gyrA salvaje		
gyrA mutado		
gyrB salvaje		
gyrB mutado		

• Volcar los resultados finales en forma estandarizada empleando el Anexo G.6.

• Consultar en caso de necesidad, para la interpretación de resultados, la siguiente dirección electrónica http://www.stoptb.org/wg/gli/TrainingPackage_LPA o http://www.who.int/tb/publications/lpa-mdr-diagnostics/en/

• Completar el resto de las preguntas del Anexo G.4. y enviarlo al laboratorio organizador.

Interpretación y análisis de resultados en el coordinador (LNR)

Para analizar la calidad de los laboratorios, en este manual se propone un sistema de puntuación y un puntaje por encima del cual se considera que el servicio tiene un rendimiento aceptable. Sin embargo, es importante considerar que cada programa debe determinar qué es un desempeño aceptable, considerando que la determinación de un rendimiento aceptable puede ser modificada en base a la experiencia con pruebas de aptitud en cada país y a la madurez que desarrolle el país en la implantación de la prueba.

Para cada suspensión enviada considerar como válidos los resultados informados por el LSN del Instituto de Medicina Tropical de Bélgica en relación con i) la identificación de *M. tuberculosis; ii)* presencia y tipo de mutación en la región del gen explorada o ausencia de mutación.

• Asignar un puntaje para cada uno de las drogas/familias de drogas investigados por los sistemas, esto es, asignarle dos puntajes, uno atribuido a la capacidad de detectar resistencia a INH y otro para RIF, correspondientes a los LiPA para drogas de primera línea. De igual modo, para los sistemas LiPA de segunda línea, calcular dos puntajes correspondientes a la precisión para detectar resistencia a fluoroquinolonas e inyectables de segunda línea.

• Considerar un valor de 20 puntos por cada suspensión correctamente informada, lo que daría un puntaje total de 100 puntos si el total de resultados es correcto. Se considerará como rendimiento aceptable aquellos servicios que obtengan un puntaje de 80 o más sin tener un falso sensible o falso resistente.

• Determinar la puntuación para cada droga estudiada en el sistema FL-LPA o SL-LPA considerando la siguiente tabla:

Tabla 10. Sistema de evaluación propuesto para la determinación del puntaje obtenido para cada muestra de bacilos enviados en la prueba de eficiencia

Resultado esperado: MTB detectado Resistencia a cada droga no detectada	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a la droga no detectada	20
MTB detectado Resistencia a la droga detectada	0
MTB detectado Resistencia a la droga indeterminada	10
MTB no detectado	0
No válido	0
Resultado esperado: MTB detectado Resistencia a la droga detectada	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a la droga no detectada	0
MTB detectado Resistencia a la droga detectada	20
MTB detectado Resistencia a la droga indeterminada	10
MTB no detectado	0
No válido	0
Resultado esperado: MTB no detectado	
Resultado informado	**Puntaje**
MTB detectado Resistencia a la droga no detectada	0
MTB detectado Resistencia a la droga detectada	0
MTB detectado Resistencia a la droga indeterminada	0
MTB no detectado	20
No válido	0

• Repetir la prueba LIPA por parte del laboratorio coordinador para aquella/s suspensión/es en las que más del 80% de los participantes hubieran obtenido un resultado no acertado. Si se determina que el error ocurrió en el LNR luego de emitir un primer informe con los resultados de las pruebas de aptitud para algunos laboratorios de la red, se procederá a informar este hallazgo en un segundo informe.

• Generar una planilla Excel con los campos presentados en el Anexo G.5 Planilla para análisis de resultados, y comenzar a volcar los resultados de la siguiente manera:

- Completar los campos de los números originales de las cepas y número de la ronda a la que pertenecen los resultados.

- Ingresar la presencia o no de mutación en la cepa según lo informado por el LSN en el casillero 1 y el resultado de la secuenciación.

- Tomar la planilla de resultados de uno de los laboratorios evaluados.

- Incorporar el nombre del laboratorio evaluado.

- Incorporar el número de la cepa que le fue otorgado por el laboratorio organizador.

- Ingresar, en la columna G "2", el puntaje obtenido para cada suspensión enviada según la tabla "Sistema de evaluación propuesto." que otorga puntajes de 0 a 20 según coincidencia o no de los resultados obtenidos respecto a los resultados consenso.

- Revisar si los cálculos que se realizan automáticamente son correctos.

• Evaluar el rendimiento del laboratorio en esta prueba.

• Evaluar la calidad del laboratorio para diferenciar *M. tuberculosis* de otras micobacterias corroborando que la micobacteria ambiental no fue detectada como *M. tuberculosis.*

• Analizar los resultados inconsistentes o imprecisos de la rutina de trabajo surgidos por problema del equipo o por posibles fallas técnicas o administrativas. En base a errores o desaciertos respecto a los resultados de la rutina de trabajo se evaluará el desempeño de cada laboratorio y el rendimiento del equipo. Entre los principales parámetros a evaluar se halla la proporción de resultados no interpretables (resultados inválidos y no determinados) considerándose como valor de referencia aceptable un porcentaje menor al 5%. Para su cálculo se empleará la siguiente fórmula:

Indicador	Descripción	Valor aceptable
Número y proporción de resultados no interpretables	Número de resultados no interpretables/ Total de muestras testeadas	<5%

Esto es cuando la prueba resulta inválida porque no aparecieron los controles CC y AC, en una muestra negativa o para el caso del control negativo porque aparecieron bandas distintas a AC y CC o cuando la prueba resulta indeterminada porque los controles indican que la prueba es válida(es decir aparecen las bandas CC y TUB, con o sin la presencia de la banda AC en una muestra positiva), pero las bandas que indican la presencia o ausencia de mutaciones no pueden ser interpretadas, porque está ausente el control del locus para un fármaco o grupo de fármacos.

• Considerar las demás respuestas emitidas en el Anexo G.4 y analizar sus respuestas.

Informe

• Chequear los resultados transcriptos al informe de resultados entre dos personas antes de enviar el informe a fin de prevenir errores en la confección del mismo.

• Emitir un informe con los resultados siguiendo el modelo presentado en el Anexo G.2. Informe de resultados, tratando de comentar los datos positivos, y destacando los avances que se evidencien a fin de estimular el personal del laboratorio.

• Informar, ante el resultado invalidado si se debió a fallas de amplificación (ausencia de banda AC en una muestra negativa) o fallas del conjugado (ausencia de banda CC)

• Remitir los informes a los distintos laboratorios a medida que se reciben los resultados. Sólo en el caso que se encuentren resultados discrepantes para una misma cepa para los dos o tres primeros resultados recibidos, se deben retener los informes para evaluar si hay algún error en la conformación del panel remitido.

• Cuando los resultados discrepantes hayan sido obtenidos luego de la emisión del primer informe, y luego de la repetición de la prueba se identifica que la causa de la discordancia se debe a un error en la conformación del panel en el LNR, se deberá remitir un segundo informe, notificando sobre este hallazgo.

• Emitir, además, una observación de las preguntas realizadas en el cuestionario.

• Solicitar las tiras obtenidas después del procesamiento de cada aislamiento en caso de que la calidad del servicio haya resultado no aceptable.

• Analizar la interpretación de resultados una vez recepcionadas las tiras.

• Evaluar las posibles causas de los errores y la posibilidad de realizar una visita de asistencia técnica, para investigar las posibles razones de los errores encontrados y aplicar medidas correctivas.

EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD INDIRECTA

Verificación a ciegas

Es muy recomendable que los laboratorios intermedios de la red que realizan pruebas de sensibilidad fenotípicas y genotípicas a partir de aislamientos, remitan al LNR aquellos aislamientos multirresistentes o con monorresistencia a RIF o INH, a fin de confirmar el patrón de sensibilidad de dichos aislamientos y realizar la sensibilidad a fármacos de segunda línea (en caso que no hubiera sido realizada a nivel intermedio); este procedimiento permitirá hacer un seguimiento, en tiempo real, de la calidad de los laboratorios de cada red.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allassia S, Aranibar M, Boutonnet M, Caserío V, Etchart AA, Fajardo S, García M, Gomez N, Gunia AM, Gustincic MV, Izquierdo V, Jara AA, Kozicky G, Matteo M, Pellegrini C, Pellegrino S, Pérez Catalán S, Poggi S, Sacramone C, Santiso GM, Souto A, Togneri AM, Wolff L, Vilche S, Eletti D, Imaz MS LED fluorescence microscopy in the diagnosis of tuberculosis: Fading and restaining of smears for external quality assessment. Rev Argent Microbiol. 2016 48(2):122-7.

2. Aziz MA, Ba F, Becx-Bleumink M, Bretzel G, Humes R, Iademarco MF, Sang Jae Kim, Lamothe F, Paramasivan CN, Ridderhof J, Sloutsky A, Van Deum A, Shah KV, Weyer K. External Quality Assessment for AFB Smear Microscopy. WHO, APHL, CDC, IUATLD, KNCV, RIT. Washington DC, 2002.

3. Barrera L. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis: Normas y guía técnica-Parte 2. OPS, 2008.

4. De Kantor IN, Kim SJ, Frieden T, Laszlo A, Luelmo F, Norval PY, Rieder HL, Valenzuela P, Weyer K. Los servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis. II Microscopía. WHO Global Programme. WHO/TB/98.258. Ginebra, 1998.

5. De Kantor IN, Kim SJ, Frieden T, Laszlo A, Luelmo F, Norval PY, Rieder HL, Valenzuela P, Weyer K. Los servicios de laboratorio en el control de la tuberculosis. I Organización y Gestión. WHO Global Programme. WHO/TB/98.258. Ginebra, 1998.

6. FIND. Quality assurance planning tool. (Tool for planning human and financial resources when rolling out an on-site supervision programme. An automated calculation feature allows simple budgeting in local or donor currencies). http://www.fnddiagnostics.org/programmes/scaling_up/lab-strength/slmta/tb-slmta/

7. FIND. MGIT procedure manual. Siddiqi SH, Rüsch-Gerdes S. Geneva, 2006. http://www.fnddiagnostics.org/resource-center/reports_brochures/071130_mgit_manual.html

8. GLI-WHO. Training package on DST by phenotypic and molecular method. Global Laboratory Initiative 2012. http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/Training%20Package%20DST_October%202012.zip

9. GLI-WHO. Training package on culture on solid and liquid medium. Global Laboratory Initiative 2012. http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/Training%20Package%20CultureOctober%202012.zip

10. -WHO. Training package on LPA (MTBDRplus v2), 2012. www.stoptb.org/wg/gli/documents.asp?xpand

11. GLI-WHO. Global Laboratory Initiative and Working Group of the Stop TB Partnership. Mycobacteriology Laboratory Manual. Ginebra, 2014. http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/gli_mycobacteriology_lab_manual_web.pdf

12. GLI-WHO. Xpert MTB/RIF training package. Global Laboratory Initiative. http://www.stoptb.org/wg/gli/TrainingPackage_XPERT_MTB_RIF.asp

13. GLI-WHO. Global Laboratory Initiative and Working Group of the Stop TB Partnership. Guide for providing technical support to TB laboratories in low- and middle-income countries. http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/guideforprovidingtechnicalsupport_gb_web.pdf

14. GLI-WHO. Practical Guide to TB Laboratory Strengthening. Global Laboratory Initiative 2017. http://www.stoptb.org/wg/gli/assets/documents/GLI_practical_guide.pdf

15. GLI-WHO. Planning for country transition to Xpert® MTB/RIF Ultra cartridges, 2017. http://www.who.int/tb/publications/2017/XpertUltra

16. Kusznierz G, Latini O, Sequeira MD. Quality assessment of smear microscopy for acid fast bacilli in the Argentine Tuberculosis laboratory network. Int J Tuber Lung Dis 2004; 8:1234-142.

17. Laszlo A et al. "Quality assurance programme for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis in the WHO/IUATLD Supranational Reference Laboratory Network: fve rounds of profciency testing", 1994–1998. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2002, 6:748–756.

18. Latini O, Latini MD, Cecconi J. Reproductibilidad de lecturas baciloscópicas. Rev Arg de Tuberculosis, Enfermedades Pulmonares y Salud Pública 1982; 1:43-47.

19. Martínez Guarneros G, Balandrano campos S, Solano Ceh MA, González Domínguez F, Lipman HB, Ridderhof JC, Flisser A. Implementation of proficiency testing in conjuntion with a rechecking system for external quality assurance in tuberculosis laboratories in México. Int J Tuberc Lung Dis. 2003;7: 516-521.

20. Nguyen TNL, Wells CD, Birkin NJ, Pham DL, Nguyen VC. The importance of quality control of sputum smear microscopy: the effect of reading errors on treatment decisions and outcomes. Int J Tuberc Lung Dis 1999; 3:483-487.

21. Nguyen TNL, Wells CD, Binkin NJ, Becerra JE, Pham Duy Linh, Nguyen Viet Co. Quality control of smear microscopy for acid-fast bacilli: the case for blinded re-reading. Int J Tuber Lung Dis 1999; 3:55-61.

22. Nikolayevskyy V, Hillemann D, Richter E, Ahmed N, van der Werf M, Kodmon C, Drobniewski F, Ruesch-Gerdes S, ERLTB-Net Network y col. External Quality Assessment for Tuberculosis Diagnosis and Drug Resistance Tuberculosis in the European Union: A five years Multicenter Implementation Study. PLOS ONE 2016; DOI: 10.1371/journal.pone.0152926

23. OPS/OMS. Curso de Gestión de Calidad de Laboratorios.

24. Pollak L, Urbanczik R. La relación entre la calidad de la muestra y la positividad en

microscopía. Bol Inform Inst Nac Tuberc (Caracas) 1969: 2,5-8.

25. Sequeira MD, Latini O, López B, Símboli N, Barrera L. Garantía de Calidad de los Métodos bacteriológicos aplicados al Diagnóstico y control del Tratamiento de Tuberculosis. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" INER E. Coni./INEI.. DOC. TEC. INER. D y R. Nº 10/03. Argentina 2003.

26. Scott L, Albert H, Gilpin C, Alexander H, DeGruy K, Stevens W. Multicenter feasibility study to assess external quality assessment panels for Xpert MTB/RIF assay in South Africa. J. Clin. Microbiol. 2014. 52: 2493-2499

27. Van Deun A, Portaels F. Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2:756-765.

28. Van Deun A, Roorda F.A, Chambugonj N, Hye A, Hossain A. Reproducibility of sputum smear examination for acid-fast bacilli: practical problems met during cross-checking. Int J Tuberc Lung Dis. 1999; 3:823-829

29. WHO. Toman´s Tuberculosis. Case detection, treatment and monitoring: questions and answers. T. Frieden, editor. 2ª edition. WHO, 2004.

30. WHO. Automated real-time nucleic acid amplifcation technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy update. Geneva, World Health Organization, 2013 (WHO/HTM/TB/2013.16)

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112472/1/9789241506335_eng.pdf

31. WHO. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to isoniazid and rifampicin. Policy update. Geneva, World Health Organization. 2016. (WHO/HTM/TB/2016.12).
http://www.who.int/tb/publications/molecular-test-resistance

32. WHO. Xpert MTB/RIF implementation manual
http://www.who.int/tb/laboratory/xpert_launchupdate/en/

33. WHO. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line antituberculosis drugs: policy guidance. Geneva, World Health Organization. 2016. (WHO/HTM/ TB/2016.07)
http://www.who.int/tb/publications/lpa-mdr-diagnostics

34. WHO. Rapid communication: key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/RR-TB). Licence: CC BY-NC-SA3.0.http://www.who.int/tb/publications/2018/WHO_RapidCommunicationMDRTB.pdf.

ANEXOS

En esta sección se presentan todos los formularios (planillas e informes) de las distintas técnicas diagnósticas necesarias para la evaluación externa de la calidad que serán abordadas en este manual.

Es importante que estos instrumentos puedan estar disponibles en formato electrónico, a través del uso de programas básicos de computación que pueden facilitar el llenado y análisis de la información (por ej. mediante la inclusión de fórmulas agregadas a las bases de datos para el cálculo de indicadores o parámetros de sensibilidad, especificidad y eficiencia, entre otros). El uso de este tipo de formularios en formato electrónico facilita además el envío de los resultados e informes a los distintos niveles de la red y al PNT.

Anexo A.1: Guía para la visita técnica para laboratorios que realizan baciloscopía y/o métodos moleculares con sistemas cerrados (Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/Rif)

Esta guía ha sido desarrollada para apoyar el trabajo de los supervisores durante la visita técnica a los laboratorios que realizan estos métodos. Si el laboratorio solo realiza baciloscopías, por favor omita las preguntas relativas a los métodos moleculares con sistema cerrado (Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/Rif). Los contenidos de las preguntas abarcan algunos puntos de gestión de calidad de manera tal, que los laboratorios vayan incorporando estas prácticas en su rutina de trabajo.

Tabla de Contenidos

Sumario del laboratorio visitado 111
A Actividades del Laboratorio 112
B Documentos para la estandarización de procedimientos 113
C Pruebas de desempeño 114
D Manejo de datos del laboratorio 116
E Monitoreo de indicadores de desempeño 118
F Abastecimiento y conservación de material 119
G Equipos 120
H Características del laboratorio 122
I Manejo y trasporte de la muestra de esputo 123
J Auditoria vertical de POE/Práctica 124
K Seguridad en el laboratorio 127
L Derivación de muestras 129
M Otras observaciones y Conclusiones 131

Sumario del laboratorio visitado

Laboratorio visitado: .....

Localidad: .....

Provincia/Estado/Departamento: .....

Responsable del laboratorio: .....

Fecha de la visita: ..... / ..... / .....

Fecha de la anterior visita: ..... / ..... / .....

Personal dedicado al diagnóstico de tuberculosis

	Número	Horas diarias/persona dedicadas al diagnóstico de tuberculosis
Profesionales		
Técnicos		
Auxiliares técnicos		
Administrativos		

Nombre de profesionales/técnicos entrevistados: .....
.....
.....

Entrenamiento en diagnóstico de TB recibido en los últimos 3 años.....
.....
.....

Comentarios:

A. Actividades del laboratorio

A continuación, marque las celdas que correspondan a las actividades desarrolladas en su laboratorio. Donde corresponda, complete los datos solicitados		
a. Baciloscopia Método:	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
b. Preparación de colorantes Distribución de colorantes ¿A cuántos laboratorios?.....		☐ ☐
c. Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/RIF	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
d. ¿Recibe muestras derivadas de otros centros de salud?	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
e. Otros Describa:	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
f. ¿Deriva muestras a laboratorios de referencia para pruebas de mayor complejidad? En caso de que sí, mencione a quién/es deriva)		☐
g. Tiene algún proceso en etapa de acreditación acreditado	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
Comentarios:		

B. Documentos para la estandarización de procedimientos
Exigibles para Baciloscopia, Xpert MTB/RIF

B.1 Organigrama y normas técnicas	
a. Organigrama incluyendo a todo el personal del laboratorio involucrado en las actividades de diagnóstico de TB	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Descripción de responsabilidades de cada trabajador y sistemas de reemplazos.	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Manual de normas para todas las técnicas que realiza	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Algoritmo/s de trabajo d.1 Del PNT d.2 Internos del laboratorio	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
B.2 Procedimientos operativos estándar (POE) **Disponibilidad de POEs (que consideren la técnica, eliminación de residuos patológicos y químicos, mantenimiento de los equipos necesarios, controles de calidad interno y evaluación externa de calidad) para:**	
a. Bacilocopia	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ Versión actualizada: (se debe colocar fecha de esta versión actualizada) SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
b. Xpert MTB/Rif	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se revisan los POE periódicamente y se corrigen adecuadamente cuando es necesario?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se retiran y archivan las versiones de POEs que fueron sustituidas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Todo el personal está informado de los contenidos de los POEs del Laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Existe un registro para documentar que miembros del personal del laboratorio ha leído y comprendido los POEs?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Se dispone de POE/Manual de bioseguridad del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

C. Pruebas de desempeño Exigibles para Baciloscopia, Xpert MTB/RIF	
C.1 Estudios de validación/verificación	
a. ¿Se realizó la validación (métodos no normalizados, métodos diseñados o desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados utilizados fuera de su campo de aplicación prevista o métodos validados subsiguientemente modificados) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
b. ¿Se realizó verificación (métodos comerciales validados utilizados sin modificaciones) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
c. ¿Existen registros que documente estas validaciones o verificaciones?	
C.2 Evaluación externa de calidad (EEC)	
Para baciloscopias	
a. ¿Participa el laboratorio en exámenes de competencia externa?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Las pruebas correspondientes a la EEC son realizadas por los laboratoristas que las ejecutan en la rutina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Los resultados de los últimos dos años muestran calidad aceptable?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

d. ¿En los resultados de los dos últimos años se reitera algún tipo de error?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de error .....
e. ¿Son los resultados del EEC diseminados entre el staff del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Existe evidencia documentada de la diseminación?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Para Xpert MTB/RIF	
a. ¿Participa el laboratorio en exámenes de competencia externa?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Las pruebas correspondientes a la EEC son realizadas por los laboratoristas que las ejecutan en la rutina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Los resultados de los últimos dos años muestran calidad aceptable?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿En los resultados de los dos últimos años se reitera algún tipo de error?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de error .....
e. ¿Son los resultados del EEC diseminados entre el personal del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Existe evidencia documentada de la diseminación de los resultados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

D. Manejo de datos del laboratorio (Formularios, instrucciones, registros e informes) **Exigibles para Baciloscopia, Xpert MTB/RIF**	
D.1 Formularios: Solicitud de estudios bacteriológicos y/o moleculares Seleccione 20 formularios, revíselos y responda	
a. ¿Usan los formularios según la norma del PNT?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se reciben completos, en general? (al menos 80% de los datos)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se archivan físicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Son escaneados y archivados en computadora?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
D.2. Instrucciones y momento de recolección de la muestra. Transporte y conservación de las muestras	
a. ¿Están disponibles las instrucciones escritas para la recolección de muestras?	SI ☐ NO ☐ No aplica ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se solicitan al menos 2 muestras de esputo a cada sintomático respiratorio, la primera en el momento de la consulta, y la segunda recolectada en el domicilio del paciente a primera hora de la mañana?	SI ☐ NO ☐ No aplica ☐ Comentarios ☐ Si su respuesta fue NO. Indique el N° y momento de recolección de muestras: .....
c. ¿Están disponibles las instrucciones escritas para el acondicionamiento, conservación y transporte de muestras? ¿Son adecuadas?	SI ☐ NO ☐ No aplica ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ No aplica ☐ Comentarios ☐
d. ¿Está disponible en el laboratorio el POE para el rechazo de muestras?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
D.3 Registro de datos - Sistema de información de laboratorio (SIL)	
a. ¿Tiene información básica requerida por las normas del PNT?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Si se emplean registros en papel	
b.1. ¿Están foliados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Si se emplean registros digitales	
c.1. ¿Existe un sistema exclusivo para TB?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c.3. ¿Hay un sistema de resguardo para el SIL de soporte digital? (describir en comentarios cómo se realiza)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

d. ¿Cada muestra mantiene un número único para todos los procedimientos que se realizan con ella?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿La cantidad de registros es racional, no genera sobrecarga innecesaria de trabajo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿La cantidad de registros es racional, no genera sobrecarga innecesaria de trabajo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Hay un POE escrito para el uso del SIL?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Registro de derivación de muestras a. ¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Está completo con la información necesaria y es legible?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Registros relacionados con la Bioseguridad	
a. ¿Existe un registro de accidentes/incidentes adecuado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Existe un registro de entrega de elementos de protección personal para cada operador?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c.¿Existe un registro de control médico anual del personal?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
D.4 Informes	
a. ¿Los informes de laboratorio identifican al laboratorio que realiza las pruebas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Los informes de laboratorio, identifican el/los métodos empleados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se ha designado a determinadas personas para emitir Informes de Resultados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Son verificados los informes por un segundo personal?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Archiva el laboratorio los datos de resultados (resultados impresos, registros electrónicos)? En caso de que sí, expliquen cómo se archivan y por cuánto tiempo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Se archivan..... Tiempo.....
f. ¿Los informes archivados son solamente accesibles al personal autorizado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Estimación del tiempo desde la recepción de la muestra hasta la emisión del informe Tomar 20 resultados producidos durante el último mes	Baciloscopía Comentarios ☐ Dentro de las 24 hs ☐ Entre 24 y 48 hs ☐ Más de 48 hs ☐
	Xpert MTB/RIF Comentarios ☐ Menos de 8 hs ☐ Entre 8 y 12 hs ☐ Más de 12 hs ☐

Comentarios	
E. Monitoreo de Indicadores de desempeño	
E.1 Exigibles para Baciloscopia Registrar los siguientes parámetros para el total de los últimos tres meses	
a. Baciloscopias totales de diagnóstico	Número..... Comentarios ☐
b. Baciloscopías positivas de diagnóstico	Número..... Comentarios ☐
c. Baciloscopias totales de control de tratamiento	Número..... Comentarios ☐
d. Baciloscopias de control de tratamiento positivas (La proporción de baciloscopias positivas debe ser cercana al 10-15% de todas las baciloscopias de control)	Número..... Comentarios ☐
e. Estimación del promedio de baciloscopías leídas por cada técnico por día	Número..... Comentarios ☐
f. ¿Analiza esta información periódicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Envía esta información al laboratorio de referencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. Si la respuesta es **Si**, ¿con qué periodicidad?	Tiempo..... Comentarios ☐
E.2 Exigibles para Xpert MTB/RIF Registrar los siguientes parámetros para el total de los últimos tres meses	
a. Pruebas realizadas	Número..... Comentarios ☐
b. Pruebas con resultado MTB detectado, resistencia a RIF detectada	Número..... Comentarios ☐
c. ¿Se informa de manera inmediata al PNT los casos identificados como resistentes a rifampicina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Resultado con errores (no deben ser mayor al 3%)	Número..... Comentarios ☐
e. Resultados inválidos (no deben ser mayor al 1%)	Número..... Comentarios ☐
f. Sin resultado (no debe ser mayor al 1%)	Número..... Comentarios ☐
g. ¿Analiza esta información periódicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Envía esta información al laboratorio de referencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. Si la respuesta es Si, ¿con qué periodicidad?	Tiempo..... Comentarios ☐

Comentarios

F. Abastecimiento y conservación de material para la realización de las distintas técnicas				
F.1 Insumos **Se considera que el suministro es adecuado cuando existe disponibilidad actual y no ha existido ninguna falta durante los últimos 6 meses**				
F.1.1 Comunes a Baciloscopia y Xpert MTB/RIF				
	Disponible		Suministro adecuado	
	SI	NO	SI	NO
a. Frascos para la recolección de muestras Registrar N/C si el laboratorio no es el sitio que entrega los frascos de esputo				
b. Marcadores				
c. Elementos de protección personal Guantes..... Mascarillas N 95..... Bata o guardapolvo.....				
F.1.2 Para Baciloscopia				
a. Portaobjetos				
b. Asas o palillos				
c. Embudo con papel de filtro				
d. Colorantes para la baciloscopia (azul de metileno, fucsina fenicada, alcohol ácido, auramina, permanganato de potasio)				
e. Agua destilada				
f. Aceite de inmersión de calidad				
g. Pañuelos de papel para limpiar los lentes del microscopio				
F.1.3 Exigibles para Xpert MTB/RIF				
a. Pipetas Pasteur descartables				
b. Kit Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/Rif				
c. Kit de calibración				

F.2 Conservación de Insumos		
Exigibles para Baciloscopia		
	Disponible	
	SI	NO
a. Colorantes En recipientes limpios y protegidos de la luz, Correctamente identificados Con fecha de elaboración		
b. Agua destilada en recipientes limpios		
Exigibles para Xpert MTB/RIF		
a. Los cartuchos son conservados a una temperatura controlada entre 2 y 30°C		
Comentarios		

G. Equipos **Verifique lo siguiente según aplique a equipo usado para actividades de laboratorio específicas de estudios, marcando en Si o No, según corresponda (Enumere el fabricante, modelo y fecha de instalación del mismo en el registro de preventivos)**		
Exigibles para Baciloscopia y Xpert MTB/RIF		
	SI	**NO**
G.1 Refrigerador		
a. Se realizan y documentan las actividades de mantenimiento preventivo (limpieza y desinfección).	☐ Frecuencia.....	☐
b. ¿Se toman y documentan lecturas de temperatura?	☐ Frecuencia.....	☐
c. ¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango.....	☐
d. ¿Hay documentación de acciones correctivas hechas en respuesta a valores fuera de rango?	☐	☐

G.2 Autoclave		
a. ¿Se realizan chequeos anuales para verificar la completa esterilización de los materiales autoclavados, prueba hidráulica y verificación de válvulas?	☐	☐
b. ¿Se registran los ciclos de esterilización diarios?	☐	☐
c. ¿Se utilizan tiras físico-químicas como control de esterilidad en cada ciclo realizado?	☐	☐
d. ¿Se utilizan controles biológicos semanales o mensuales como control de esterilidad?	☐ Frecuencia de uso	☐
Exigibles para Baciloscopia **G.3 Microscopio**		
a. Existe cantidad suficiente para la carga de trabajo (Considerar que cada baciloscopia coloreada por ZN requiere al menos 5 minutos para su lectura, mientras que las láminas coloradas para fluorescencia requieren en promedio 2-3 minutos para su observación)	☐	☐
b. Funciona adecuadamente (Mirar una lámina coloreada)	☐	☐
c. ¿Se realiza y documenta diaria y anualmente actividades de mantenimiento preventivo (limpieza)?	☐	☐
d. Si se usan microscopios de fluorescencia con lámpara de mercurio ¿Registra el tiempo de uso de la lámpara de mercurio y la reemplaza, previo al límite de duración según describe el fabricante?	☐	☐
G.4 Balanza		
a. ¿Se realiza y documenta diaria y anualmente actividades/ servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
b. ¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c. ¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐	☐
Exigibles para Xpert MTB/RIF **G.5 GeneXpert** **N° de módulos del equipo.....**		
a. ¿Está instalado el último software en la computadora?	☐	☐
b. El equipo y la computadora cuenta con un sistema de alimentación auxiliar para el caso de interrupción de la electricidad (UPS)	☐	☐

c. ¿Se realizó la calibración del equipo? ¿Cuándo fue la última calibración?	☐ Fecha.../.../.....	☐
d. ¿Existe algún módulo que actualmente no esté funcionando?	☐	☐
e. ¿Ha existido algún período, durante el último año, en el cuál el laboratorio ha interrumpido la realización de la prueba debido a fallas en el equipo o a falta de cartuchos?	☐ Duración de la interrupción.....	☐
f. ¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐
g. ¿Existe un sistema establecido de derivación de muestras en caso de que el equipo se averíe?	☐	☐
Comentarios		

H. Características del laboratorio (Infraestructura básica, bioseguridad, ubicación de las tareas según el nivel de riesgo biológico) Marque las celdas que correspondan a las características de su laboratorio)	
H.1 Lugar dónde se procesan las muestras	
a. En un laboratorio dedicado a TB b. En un laboratorio dedicado a otras tareas, pero existen mesas o áreas separadas de un laboratorio dedicadas a TB (al menos para la realización de extendidos o la preparación de las muestras e inoculación a los cartuchos de Xpert MTB/RIF) c. Horarios de poco flujo de personal	☐ ☐
d. Espacios separados para la realización de microscopía, introducción de los cartuchos en el equipo GeneXpert e informes	☐
H.2 Renovación, acondicionamiento y direccionamiento del aire del laboratorio	
a. el laboratorio cuenta con ventanas para renovar el aire o un extractor de aire que permite realizar de 6 a 12 cambios del volumen de aire por hora, no estando la corriente de aire dirigida a la mesada en la que se preparan los extendidos o procesan las muestras para inocular los cartuchos. b. si existe acondicionador de aire, el equipo no genera movimiento de aire en el área de preparación de los extendidos o procesamiento de muestras para inocular a cartuchos	☐ ☐

H.3 Sistema de conexión	
a. Acceso a internet en forma continua b. Acceso a teléfono en forma continua	☐ ☐
H.4 Sistema de acondicionamiento temperatura del aire para el equipamiento	
Exigible para Xpert MTB/RIF	
a. el laboratorio donde se halla el equipo tiene un sistema de climatización que permite mantener la temperatura entre 15 y 30°C.	☐
b. el laboratorio cuenta con espacio disponible suficiente, limpio y con temperatura adecuada (hasta 25°C) para el almacenamiento de los cartuchos.	☐
H.4 Iluminación y condiciones generales del área de trabajo	
a. La iluminación adecuada (se considera 500 LUX sin emisión de reflejos o brillos, lo que equivale a 50 Watt de una lámpara fluorescente para 5 m2)	☐
b. Paredes y techos están pintados, limpios y sin humedad	☐
c. Todas las áreas de trabajo se observan limpias, existe un servicio de limpieza diario	☐
Comentarios	

I. Manejo y trasporte de la muestra de esputo			
I.1 Recolección de la muestra **(Verificar las muestras recibidas en el día, ver si el volumen es adecuado, si existen derrames, si están bien acondicionadas, etc.)**			
a. El tipo de envase utilizado para la recolección de esputo ¿Cumple con las especificaciones técnicas normadas?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. El rótulo de los envases con la identificación del paciente se halla en el costado del frasco y no en la tapa.	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c. Ante una muestra salivosa se realiza la baciloscopia/ Xpert MTB/RIF y se indica en el informe que el estudio fue realizado utilizando una muestra salivosa.	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
I.2 Conservación y transporte de la muestra			
a. ¿Están bien acondicionados los frascos con muestras que recibe el laboratorio, cumplimentando las normas locales para el envío de muestras?(Ej. transportadas en un contenedor fuerte, irrompible y cerrado, etiquetado con el símbolo internacional de riesgo biológico)	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐

b. Si son referidas de otros centros, ¿arriban al laboratorio dentro de las 24 hs de la recolección de la muestra?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Las muestras son conservadas en lugar fresco, preferentemente en el refrigerador, hasta su procesamiento?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se guardan las muestras en un refrigerador distinto al que se guardan los reactivos (o al menos en un estante exclusivo)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de las muestras al laboratorio que las cultiva/ procesa por Xpert MTB/RIF?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas	
J.1 Procedimiento para Baciloscopía Pedirle, si es posible, al técnico que realice la técnica. De lo contrario, solicitar al personal que relate cómo procede. Verificar extendidos, observar en el microscopio láminas coloreadas y observar los registros de resultados.	
a. ¿Se utilizan portaobjetos nuevos para la realización de las baciloscopías?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se incluyen controles internos según normas?	Si ☐ cada vez que se colorea ☐ cada ___ días ☐ con c/nuevo lote de reactivos ☐ nunca ☐

c. ¿La identificación de los portaobjetos es realizada siempre en el mismo borde de cada lámina con el número de identificación de cada muestra?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se selecciona la partícula más densa o purulenta de la muestra de esputo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Se realiza el extendido con un tamaño de aproximadamente 2-3 cm de largo por 1-2 cm de ancho para que quede con un grosor homogéneo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿El extendido es secado al aire, hasta que no quede humedad alguna?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿El extendido es fijado 2 o 3 pasadas rápidas por la llama, sin sobrecalentar o sobre una manta eléctrica a 60°C durante una hora?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se colorean no más de 12 extendidos por tanda cuando la coloración se realiza sobre soporte?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Se filtra cada día en que va a ser empleada la fucsina/ auramina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. ¿El colorante de contraste es colocado por no más de un minuto en la técnica de fluorescencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
k. ¿Son examinados durante un lapso no mayor a 24 hs después de la tinción los extendidos con la coloración fluorescente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
l. ¿Se limpian las lentes de inmersión del microscopio con un papel suave después de cada extendido?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. En la coloración de ZN ante la presencia de menos de 5 bacilos/100 campos, se toma la siguiente actitud: - ampliar la lectura a 200 campos. - si con esa lectura no se encuentran más bacilos se realiza otro extendido de la misma muestra, - Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado del anterior la muestra se informa con el número exacto de bacilos observados, y solicitar una nueva muestra. - De ser posible la muestra se deriva para Xpert MTB/RIF, o por cultivo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

n. En la coloración fluorescente ante una baciloscopía en la que se lee menos de 5 bacilos en una línea a 200x de amplificación o menos de 3 bacilos en una línea a 400 x de amplificación, se toma la siguiente actitud: - Ampliar la lectura a otra línea del extendido - Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra - Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado anterior, la muestra debe informarse como "Se requiere confirmación" solicitando una nueva muestra - De ser posible la muestra se deriva para Xpert MTB/RIF, o por cultivo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
o. ¿Se conservan las láminas según normas para su envió al Laboratorio de referencia para la evaluación externa de calidad por relectura de láminas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas	
J.2 Procedimiento del Xpert MTB/RIF Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo de la prueba del Xpert MTB/RIF. De lo contrario solicitar al personal que relate cómo procesa	
a. ¿Se agrega el reactivo de muestra en la cantidad establecida por el fabricante?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se agita al menos dos veces la mezcla de la muestra con el reactivo de muestra durante el tiempo de incubación?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿El tiempo de incubación de la muestra con el reactivo de muestra es de 15 minutos (utilizando preferente un cronómetro)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

d. ¿Se transfieren 2 ml de la mezcla al cartucho evitando transferir partículas sólidas y generar burbujas durante el proceso?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿El laboratorista puede analizar los datos almacenados en el instrumento? (por ejemplo, para verificar resultados de pacientes individuales, códigos de error, etc.)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Se analizan las curvas y se registran peculiaridades de esas curvas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿El informe se realiza según lo establece el equipo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿El tiempo que transcurre entre la carga de las muestras en el cartucho y su ubicación y procesamiento en el equipo es menor a 8 horas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

K. Seguridad en el laboratorio **Exigibles para Baciloscopia, Xpert MTB/RIF**	
K.1 Prácticas de seguridad	
a. ¿Están disponibles los desinfectantes recomendados para tuberculosis (fenol al 5%, hipoclorito de sodio al 1%, etanol al 70%)?	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se limpian y desinfectan las mesadas de trabajo al menos una vez antes de comenzar y al finalizar cada día de trabajo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se emplean guantes de acuerdo a las normas de trabajo de bioseguridad general de los laboratorios?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se utilizan respiradores(tipo N95 o FFP2) para trabajar con muestras? (Opcional)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. Disponibilidad de respiradores (tipo N95 o FFP2), para su uso en caso de derrames.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

f. ¿Los frascos con las muestras de esputo o cartuchos de Xpert utilizados son eliminados con los residuos patológicos por métodos recomendados (autoclavado o tratamiento con hipoclorito de sodio antes de su disposición con el resto de los residuos patológicos de la institución o, para casos especiales, incineración a cielo abierto)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Kit para el caso de derrames que contenga: una bolsa autoclavable, guantes, batas, desinfectantes apropiados, respiradores N95 o FFP2, algodón y papel adsorbente, jabón, palita y recipiente para recoger residuos, contenedor para cortopunzantes, cartel de NO INGRESAR)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
K.2 Seguridad del personal	
a. Programa regular anual de control médico para los trabajadores de salud, siguiendo la normativa laboral vigente en el país (Si no hubiera política adoptada, el supervisor debe asegurar que el personal de laboratorio tenga como mínimo una evaluación médica anual que puede incluir examen radiológico de tórax).	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Conoce y tiene disponible instrucciones escritas para accidentes o incidentes (puede estar incluido en el manual/POE de Bioseguridad del laboratorio)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Programa de entrenamiento de seguridad / bioseguridad inicial con registros de participación del personal del laboratorio.	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

L. Derivación de muestras	
L.1 Exigibles para Baciloscopia, Xpert MTB/RIF	
a. ¿Se derivan al laboratorio de referencia todas las muestras indicadas para estudios posteriores? Las siguientes muestras deberían ser derivadas - muestras para diagnóstico: • de pacientes con síntomas respiratorios persistentes y dos o más muestras anteriores con baciloscopía o Xpert negativos • de pacientes con sospecha de TB extrapulmonar • de niños • de inmunosuprimidos particularmente VIH positivos • de pacientes con antecedente de tratamiento antituberculosis • de pacientes con exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (contactos de casos con tuberculosis resistentes, internados o trabajadores de instituciones de salud o de prisiones donde se registran casos con tuberculosis resistente), incluidos aquellos investigados por métodos moleculares • de lavado gástrico y lavado bronquioalveolar • otros grupos de riesgos definidos por el país • pacientes con resultado resistente a rifampicina para confirmar la resistencia y realizar pruebas de sensibilidad al resto de las drogasde primera y segunda línea -muestras para control de tratamiento: • con baciloscopía positiva al finalizar el segundo mes de quimioterapia o en un control posterior	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Recibe los informes de los laboratorios a los que deriva las muestras para estudios de mayor complejidad?	

c. ¿Cuál es el tiempo promedio que demoran en recibir resultados de los estudios derivados?	Cultivo e identificación ..... días Xpert MTB/RIF .....días Lipas: .....-días Prueba de sensibilidad (métodos fenotípicos) a Rifampicina .....días a Isoniacida .....días a drogas de segunda línea ..... días
Comentarios	

M. Otras observaciones

El personal del laboratorio manifestó las siguientes inquietudes en relación a su laboratorio de referencia.....
.....
.....
.....

Conclusiones

Se destacan las siguientes fortalezas .....
.....
.....
.....
.....

Se destacan los siguientes desafíos o medidas correctivas a implementar prioritariamente por las autoridades .....
.....
.....
.....

por el personal de laboratorio.....
.....
.....
.....

Se identificaron las siguientes necesidades de entrenamiento.....
.....
.....
.....

Acuerdos alcanzados en relación a los desafíos .....
.....
.....

Nombre y firma del supervisor/es: .....

Nombre y firma del responsable del laboratorio: .....

Fecha: ..... /...../.....

Anexo A.2: Guía para la visita técnica para laboratorios que realizan cultivo y/o identificación de Complejo M. tuberculosis (CMTB)

Esta guía ha sido desarrollada para apoyar el trabajo de los supervisores durante la visita técnica a los laboratorios que realizan estos métodos. Si el laboratorio realiza identificación del CMTB a partir de muestras por métodos moleculares con sistema cerrado (Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/Rif) remitirse a las preguntas presentadas en el Anexo A.1. Recordar que en el caso de haber completado el Anexo A.1, se deben obviar las preguntas comunes a varias metodologías.

Los contenidos de las preguntas abarcan algunos puntos de gestión de calidad de manera tal de que los laboratorios vayan incorporando estas prácticas en su rutina de trabajo.

Tabla de Contenidos

Sumario del laboratorio visitado 133
A Actividades del Laboratorio 134
B Documentos para la estandarización de procedimientos 135
C Pruebas de desempeño 137
D Manejo de datos del laboratorio 139
E Monitoreo de indicadores de desempeño 142
F Abastecimiento y conservación de material 143
G Equipos 146
H Características del laboratorio 150
I Manejo y trasporte de la muestra de esputo 153
J Auditoria vertical de POE/Práctica 154
K Seguridad en el laboratorio 159
L Derivación de muestras 161
M Otras observaciones y Conclusiones 163

Sumario del laboratorio visitado

Laboratorio visitado: .....

Localidad: .....

Provincia/Estado/Departamento: .....

Responsable del laboratorio: .....

Fecha de la visita: ..... / ..... / .....

Fecha de la anterior visita: ..... / ..... / .....

Personal dedicado al diagnóstico de tuberculosis

	Número	Horas diarias/persona dedicadas al diagnóstico de tuberculosis
Profesionales		
Técnicos		
Auxiliares técnicos		
Administrativos		

Nombre de profesionales/técnicos entrevistados: .....
.....
.....

Entrenamiento en diagnóstico de TB recibido en los últimos 3 años.....
.....
.....

Comentarios:

A. Actividades del laboratorio

A continuación, marque las celdas que correspondan a las actividades desarrolladas en su laboratorio. Donde corresponda, complete los datos solicitados		
a. Cultivo en medio sólido	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
b. Cultivo en medio líquido	Número estimado de pruebas por mes ___	☐ ☐
c. Preparación de medios de cultivo	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
d. Identificación del Complejo *M. tuberculosis* por métodos inmunocromatográficos	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
e. Identificación del Complejo *M. tuberculosis* por métodos fenotípicos	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
f. Identificación por métodos moleculares cerrados comerciales *	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
g. Identificación por métodos moleculares abiertos comerciales y/o caseros. Nombre del equipo	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
h. Otros	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
i. ¿Recibe muestras derivadas de otros centros de salud?	Número estimado de pruebas por mes ___	☐

j. ¿Deriva muestras a laboratorios de referencia para pruebas de mayor complejidad? En caso de que sí, mencione a quién/es deriva:	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
g. Tiene algún proceso en etapa de acreditación acreditado	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
• Utilizar el Anexo A.1 para supervisar esta metodología		
Comentarios:		

B. Documentos para la estandarización de procedimientos
Exigibles para cultivo e identificación de *M. tuberculosis*

B.1 Organigrama y normas técnicas	
a. Organigrama incluyendo a todo el personal del laboratorio involucrado en las actividades de diagnóstico de TB	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Descripción de responsabilidades de cada trabajador y sistemas de reemplazos.	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Manual de normas para todas las técnicas que realiza	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Algoritmo/s de trabajo d.1 Del PNT d.2 Internos del laboratorio	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

B.2 Procedimientos operativos estándar (POE) **Disponibilidad de POEs (que consideren la técnica, eliminación de residuos patológicos y químicos, mantenimiento de los equipos necesarios, controles de calidad interno y evaluación externa de calidad) para:**	
a. Preparación de medios y/o reactivos	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ Versión actualizada: (se debe colocar fecha de esta versión actualizada) SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
b. Método de cultivo que se utiliza/n (decontaminación y medios utilizados) Método……	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
c. Identificación de M. tuberculosis por métodos inmunocromatograficos y/o fenotípicos Método ……	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
d. Identificación de M. tuberculosis por métodos moleculares con sistema abiertos Método……	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
e. ¿Se revisan los POE periódicamente y se corrigen adecuadamente cuando es necesario?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Se retiran y archivan las versiones de POEs que fueron sustituidas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Todo el personal está informado de los contenidos de los POEs del Laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se dispone de POE/Manual de bioseguridad del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

C. Pruebas de desempeño Exigibles para cultivo e identificación de *M. tuberculosis*	
C.1 Estudios de validación/verificación	
a. ¿Se realizó la validación (métodos no normalizados, métodos diseñados o desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados utilizados fuera de su campo de aplicación prevista o métodos validados subsiguientemente modificados) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
b. ¿Se realizó verificación (métodos comerciales validados utilizados sin modificaciones) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
c. ¿Existen registros que documente estas validaciones o verificaciones?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
C.2 Evaluación externa de calidad (EEC)	
Para cultivo	
a. ¿Participa el laboratorio en exámenes de competencia externa?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Si su respuesta anterior fue afirmativa, indique el tipo de prueba de EEC de la que participa: -monitoreo externo de los indicadores de desempeño -evaluación de la calidad de los medios producidos - Otra.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Especificar.....
c. ¿Los resultados de las últimas dos evaluaciones muestran calidad aceptable? -monitoreo externo de los indicadores de desempeño -evaluación de la calidad de los medios producidos -Otra	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Especificar.....

d. ¿En los resultados de los dos últimos años se reitera algún tipo de desvío o mala calidad? -monitoreo externo de los indicadores de desempeño -evaluación de la calidad de los medios producidos - Otra	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de desvío ..... SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de desvío ..... SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de desvío .....
e. ¿Son los resultados del EEC diseminados entre el staff del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Existe evidencia documentada de la diseminación?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Para identificación de Complejo *M. tuberculosis (En el caso de método molecular abierto (LIPA) se considera, además la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida)*	
a. ¿Participa el laboratorio en exámenes de competencia externa?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Pruebas realizadas Método fenotípico Método inmunocromatográfico Método molecular abierto	☐ ☐ ☐ Comentarios ☐
c. ¿Las pruebas correspondientes a la EEC son realizadas por los laboratoristas que las ejecutan en la rutina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Los resultados de los últimos dos años muestran calidad aceptable?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿En los resultados de los dos últimos años se reitera algún tipo de error?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de error .....
f. ¿Son los resultados del EEC diseminados entre el personal del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Existe evidencia documentada de la diseminación de los resultados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

D. Manejo de datos del laboratorio (Formularios, instrucciones, registros e informes) **EExigibles para cultivo e identificación de Complejo *M. tuberculosis***			
D.1 Formularios: Solicitud de estudios bacteriológicos y/o moleculares Seleccione 20 formularios, revíselos y responda			
a. ¿Usan los formularios según la norma del PNT?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. ¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c. ¿Se reciben completos, en general? (al menos 80% de los datos)	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
d. ¿Se archivan físicamente?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
e. ¿Son escaneados y archivados en computadora?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
D.2 Registro de datos - Sistema de información de laboratorio (SIL)			
a. ¿Tiene información básica requerida por las normas del PNT?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. Si se emplean registros en papel			
b.1. ¿Están foliados?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c. Si se emplean registros digitales			
c.1. ¿Existe un sistema exclusivo para TB?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c.3. ¿Hay un sistema de resguardo para el SIL de soporte digital? (describir en comentarios cómo se realiza)	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
d. ¿Cada muestra y/o cultivo u aislamiento mantiene un número único para todos los procedimientos que se realizan con ella/el?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
e. ¿La cantidad de registros es racional, no genera sobrecarga innecesaria de trabajo?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
f. ¿El acceso al SIL está limitado a personal autorizado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
g. ¿Hay un POE escrito para el uso del SIL?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
Registro de derivación de muestras y/o aislamientos a. ¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. ¿Está completo con la información necesaria y es legible?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
D.3 Registros relacionados con la Bioseguridad			
a. ¿Existe un registro de accidentes/incidentes adecuado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. ¿Existe un registro de entrega de elementos de protección personal para cada operador?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐

c.¿Existe un registro de control médico anual del personal?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
D.4 Informes	
a. ¿Los informes de laboratorio identifican al laboratorio que realiza las pruebas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Los informes de laboratorio, identifican el/los métodos empleados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se ha designado a determinadas personas para emitir Informes de Resultados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Son verificados los informes por un segundo personal?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Archiva el laboratorio los datos de resultados (resultados impresos, registros electrónicos)? En caso de que sí, expliquen cómo se archivan y por cuánto tiempo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Se archivan..... Tiempo.....
f. ¿Los informes archivados son solamente accesibles al personal autorizado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Estimación del tiempo desde la recepción de la muestra hasta la emisión del informe Tomar 20 resultados producidos durante el último mes	Cultivo Informe de muestra contaminada (*) Número ..... Entre 0 y 72 hs ☐ N° ..... Más de 72 hs ☐ N° ..... (*) Para el cálculo de tiempo de respuesta se toma como tiempo 0, la fecha de detección del cultivo contaminado en el registro de laboratorio Informe de muestra cultivo positivo Número de positivos ..... Dentro de las 48hs de positividad N°..... Informe de muestra cultivo negativo (*) Número de negativos..... Entre 62 y 64 días (medio sólido) N° ..... Más de 64 días N° ..... Entre 42 y 44 días (medio líquido) N° .....Más de 44 días N° ..... (*) Para el cálculo de la demora se toma como tiempo 0, la fecha de siembra del cultivo Comentarios ☐

	Informe de CMTB por métodos fenotípicos (*) Entre 20 y 40 días ❐ N° ..... Más de 40 días ❐ N° ..... Informe de CMTB por inmunocromatografía (*), (***) Entre 24 a 48 hs ❐ N° ..... Más de 48 hs ❐ N° ..... Informe de CMTB por sist. abierto molecular (*), (**) Entre 48 a 72 hs ❐ N° ..... Más de 72 hs ❐ N° ..... Comentarios ❐ Informe de resistencia a isoniacida y rifampicina (LIPA) (*), (**) Menos de 48 hs ❐ Entre 48 y 96 hs ❐ Más de 96 hs ❐ Comentarios ❐ (*) Para el cálculo de la demora se toma comotiempo 0, la fecha en donde se detectó el cultivo positivo (**) Para el cálculo de la demora se toma como tiempo 0, la fecha de recepción del aislamiento o de la muestra (para métodos moleculares) (***) Puede ser mayor si el procesamiento de las muestras se realiza por lotes
Comentarios	

E. Monitoreo de Indicadores de desempeño	
E.1 Exigibles para Cultivo Registrar los siguientes parámetros para el total de los últimos tres meses o, si la carga de trabajo es elevada, para el último mes previo a la visita	
a. Cultivos totales	Número..... Comentarios ☐
b. Porcentaje de contaminación (por tubo)	% ..... Comentarios ☐
c. Proporción de muestras baciloscopia positiva con cultivo positivo	% ..... Comentarios ☐
d. Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de tuberculosis pulmonar (en relación a la baciloscopia)	% ..... Comentarios ☐
e. Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de tuberculosis pulmonar (en relación a la prueba Xpert MTB/RIF o Xpert Ultra MTB/RIF)	% ..... Comentarios ☐
f. Estimación del promedio de cultivos realizados por cada técnico por día	Número..... Comentarios ☐
g. ¿Analiza esta informaciónperiódicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Envía esta información al laboratorio de referencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. Si la respuesta es Si, ¿con qué periodicidad?	Tiempo..... Comentarios ☐
E.2 Exigibles para identificación de Complejo *M. tuberculosis (En el caso de LIPA se considera,además, la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida)* Registrar los siguientes parámetros para el total de los últimos tres meses o, si la carga de trabajo es elevada, para el último mes previo a la visita	
a. Pruebas realizadas Método fenotípico Método inmunocromatográfico Método molecular abierto	 Número..... Comentarios ☐ Número..... Comentarios ☐ Número..... Comentarios ☐
b. Número y proporción de muestras con resultados no interpretables (inválidos e indeterminados) por sistema molecular abierto (LIPA). Se considera adecuado cuando este valor no excede el 5%	Número..... % ..... Comentarios ☐
c. Número y proporción de muestras y/o aislamientos sin resultados por el sistema molecular abierto (LIPA). Se considera adecuado cuando este valor no excede el 1%	Número..... Comentarios ☐

d. Pruebas con resultado MTB detectado y sólo resistencia a Rifampicina detectada	Número..... Comentarios ☐
e. Pruebas con resultado MTB detectado y sólo resistencia a Isoniacida detectada	Número..... Comentarios ☐
f. Pruebas con resultado MTB detectado y multirresistencia detectada	Número..... Comentarios ☐
g. ¿Se informa de manera inmediata al PNT los casos identificados como resistentes a rifampicina y multirresistentes?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Analiza esta información periódicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Envía esta información al laboratorio de referencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. Si la respuesta es Si, ¿con qué periodicidad?	Tiempo..... Comentarios ☐
Comentarios	

F. Abastecimiento y conservación de material para la realización de las distintas técnicas

F.1 Insumos
Se considera que el suministro es adecuado cuando existe disponibilidad actual y no ha existido ninguna falta durante los últimos 6 meses

F.1.1 Comunes a preparación de medios, cultivo e identificación de Complejo *M. tuberculosis*

	Disponible		Suministro adecuado	
	SI	NO	SI	NO
a. Tubos o frascos para almacenar medios de cultivo o para decontaminación de las muestras				
b. Marcadores				
c. Agua destilada				
d. Gradillas, cestos y bandejas				
e. Recipientes para autoclavar material				
c. Elementos de protección personal Guantes..... Mascarillas N 95/100..... Tyvec o bata impermeable.....				

F.1.2 Para preparación de medios y/o reactivos para distintas metodologías				
a. Material de vidrio para medición y almacenamiento (Erlenmeyer, probetas, vaso de precipitado, tubos)				
b. Sistemas manuales o automáticos para dispensar medios				
c.Tiras para medir PH en distintos rangos				
F.1.3 Exigibles para cultivo				
a. Hisopos				
b. Pipetas de vidrio				
c. Pipetas Pasteur descartables				
d. Tubos desechables con tapa a rosca de 15 ml o 50 ml				
e. Dispositivos para pipetear (peritas de goma, propipetas de goma o eléctricas)				
f. Morteros y pilones				
g. Reactivos para la realización del cultivo (soluciones descontaminantes y reguladoras)				
h. Huevos provenientes de granjas ecológicas				
i. Tubos, reactivos y portatubos para cultivo en MGIT				
F.1.4 Exigibles para identificación por métodos fenotípicos e inmunocromatográficos				
a. Tira inmunocromatográfica				
b. Tubos eppendorf de 1,5 ml				
c. Puntas descartables con protección de aerosoles de 100 µl y 200 µl				
d. Tubos de vidrio con tapa baquelita de 13 x 100 mm				
e. Tiras reactivas de niacina				
f. Reactivos para la prueba de nitratasa, catalasa y niacina				
F.1.5 Exigibles para identificación por métodos moleculares (LiPA u otros métodos caseros)				
a. Equipo de extracción				
b. Equipo LIPA				
c. Reactivos para la mezcla de amplificación (buffers, taq polimerasa, nucléotidos, cebadores)				
d. Agua destilada Milli-Q o bidestilada				
e. Tubos de 0,2 ml pared ultra-fina				
f. Tubos eppendorf de 1,5 ml				
g. Puntas descartables con protección de aerosoles de 20 µl, 100 µl y 1000 µl				

F.2 Conservación de Insumos		
Exigibles para cultivo e identificación por métodos fenotípicos e inmunocromatográficos		
	Disponible	
	SI	NO
a. Reactivos En recipientes limpios y protegidos de la luz, Correctamente identificados		
b. Agua destilada en recipientes limpios		
Exigibles para identificación por métodos moleculares abiertos (LIPA)		
a. Los reactivos para la identificación de los amplicones por hibridación reversa son conservados a una temperatura controlada entre 2 y 8°C en área de apertura de amplicones		
b. Los reactivos para la reacción de amplificación de ácidos nucléicos o de los de la mezcla del método casero son conservados a una temperatura controlada entre -20 °C en área de preparación de mezcla		
c. Agua Milli-Q en alícuotas		
d. Los reactivos para corrida electroforética y para la carga y revelado de amplicones son conservados a temperatura ambiente en área de apertura de amplicones		
Comentarios		

G. Equipos Verifique lo siguiente según aplique a equipo usado para actividades de laboratorio específicas de estudios, marcando en Si o No, según corresponda (Enumere el fabricante, modelo y fecha de instalación del mismo en el registro de preventivos)		
Exigibles para cultivo e identificación de Complejo M tuberculosis		
	SI	**NO**
G.1 Refrigerador (Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)		
a. Se realizan y documentan las actividades de mantenimiento preventivo (limpieza y desinfección).	☐ Frecuencia.....	☐
b. ¿Se toman y documentan lecturas de temperatura?	☐ Frecuencia.....	☐
c. ¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango.....	☐
d. ¿Hay documentación de acciones correctivas hechas en respuesta a valores fuera de rango?	☐	☐
G.2 Autoclave (Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)		
a. ¿Se realizan chequeos anuales para verificar la completa esterilización de los materiales autoclavados, prueba hidráulica y verificación de válvulas?	☐	☐
b. ¿Se registran los ciclos de esterilización diarios?	☐	☐
c. ¿Se utilizan tiras físico-químicas como control de esterilidad en cada ciclo realizado?	☐	☐
d. ¿Se utilizan controles biológicos semanales o mensuales como control de esterilidad?	☐ Frecuencia de uso:	☐
Exigibles para preparación de medios **G.3 Estufa de coagulación de medios a base de huevos o coagulador**		
a. Trabaja constantemente a 80-85ºC, con un sistema de baño de agua alrededor de cada estante o ventilación forzada que asegure temperatura uniforme en su interior	☐	☐
b. Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo.	☐	☐
c. ¿Existen registros de control de temperatura del proceso de coagulación?	☐ Frecuencia de uso del registro:	☐

G.4 Balanza (Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)		
a. ¿Se realiza y documenta diaria y anualmente actividades/ servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
b. ¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c. ¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐ Frecuencia :	☐
G.5 Baños termostáticos		
a. ¿Tiene control electrónico de temperatura?	☐	☐
b. Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo	☐	☐
c. ¿Existen registros de control de temperatura del cada proceso?	☐ Frecuencia :	☐
Exigibles para cultivo e identificación de Complejo M tuberculosis **G.6 Pipetas automáticas**		
a. Realizan y documentan anual o bianualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo (dependiendo de las exigencias para cada organismo de calidad).	☐	☐
b. ¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c. ¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐ Frecuencia :	☐
G.7 Vortex		
a. Realizan y documentan anualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo, incluido el de limpieza diaria.	☐	☐
G.8 Cabina de seguridad biológica		
a. ¿Es alguno de estos modelos? Clase I (EN12469/NSF49) Clase IIA2 (NSF49) o Clase II (EN12469)	Modelo ..... ☐ ☐	 ☐ ☐
b. ¿Tiene ducto al exterior?	☐	☐
c. ¿Está certificada(s) al menos anualmente? (verificar certificados)	☐	☐
d. ¿El equipo cuenta con un sistema de alimentación de corriente eléctrica ininterrumpida (UPS)?	☐	☐

e. ¿Realizan y documentan anualmente el uso del equipo y actividades/servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
f. ¿Realizan y documentan diariamente la limpieza y funcionamiento?	☐	☐
G.9 Centrífuga		
a. ¿Es refrigerada con rango de temperatura entre 4 y 12°C y alcanza una velocidad de al menos 3000 g?	☐	☐
b. ¿Tiene portatubos cubiertos con tapa y son autoclavables?	☐	☐
c. ¿Tiene registro de uso y temperatura de cada corrida?	☐	☐
d. ¿Cuenta con un sistema de alimentación ininterrumpida (UPS)?	☐	☐
e. ¿Realizan y documentan diariamente el uso del equipo y anualmente los servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
G.10 Cámara o estufa de cultivo		
a. ¿Tiene suficiente espacio para la carga de trabajo que maneja el laboratorio?	☐	☐
b. ¿Tiene control de temperaturas mínima y máxima con equipos que detecten variaciones de ± 1ºC?	☐ Frecuencia :	☐
c. ¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango:	☐
d. ¿Existen registros de temperatura y se aplican medidas correctivas cuando los parámetros de temperatura están fuera de rango?	☐	☐
G.11 Equipo Bactec 320/960		
a. ¿Tiene computadora asociada con instalación del último software?	☐	☐
b. ¿Cuenta el equipo y la computadora con un sistema de alimentación de energía eléctrica ininterrumpida (UPS)?	☐	☐
c. ¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según lo descrito por el fabricante?	☐	☐
d. ¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐

e. ¿Existen y se revisan los registros de calibración y mantenimiento?	☐ Frecuencia :	☐
G.12Cronómetro		
a. ¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
b. ¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐	☐
Exigibles para identificación de Complejo M tuberculosis por métodos moleculares abiertos (LIPA) o caseros **G.13 Termociclador**		
a. ¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐
b. ¿Se llevan a cabo procedimientos de verificación de temperatura del bloque térmico mediante por sondas externas según es descrito por el fabricante?		
G.14 Twincubator		
a. ¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?		
G.15 Freezer		
a. Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo.		
b. ¿Se toman y documentan lecturas de temperatura?		
c. ¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?		
d. ¿Hay documentación de acciones correctivas hechas en respuesta a valores fuera de rango?		
G.16 Microcentrífuga (para el caso de realizar la prueba a partir de aislamientos)		
a. Realizan y documentan diariamente el uso del equipo y anualmente los servicios de mantenimiento preventivo.		
b. ¿Es refrigerada?		
Comentarios		

H. Características del laboratorio (Infraestructura básica, bioseguridad, ubicación de las tareas según el nivel de riesgo biológico) Marque las celdas que correspondan a las características de su laboratorio)	
H.1 Lugar dónde se procesan las muestras para cultivo **H.1.1 Exigible para técnicas que no requieren métodos de concentración (Método de Ogawa-Kudoh)**	
a. En un laboratorio dedicado a TB	☐
b. En un laboratorio dedicado a otras tareas, pero existen mesas o áreas separadas de un laboratorio dedicadas a TB	☐
c. Horarios de poco flujo de personal	☐
d. Espacios separados para la realización de informes	☐
H.1.2 Exigible para cultivo en medio sólido que entrañan procedimientos de licuefacción de las muestras, concentración de los bacilos y/o extracción de DNA a partir de muestras biológicas (Laboratorios de riesgo moderado)	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en laboratorios con: a. acceso restringido	☐
b. pisos, paredes, techos, muebles y sillas tienen superficies impermeables	☐
c. espacio específico para la cabina de seguridad biológica	☐
d. con la autoclave ubicada en el lugar o en un laboratorio cercano o accesible por una vía de circulación utilizada sólo por el personal del laboratorio. (El material que debe ser trasladado para ser esterilizado debe estar acondicionado en recipientes cerrados y protegido contra caídas y golpes)	☐
H.1.3 Exigible para cultivo, extracción de DNA e identificación de especie a partir de aislamientos (Laboratorios de riesgo alto)	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en laboratorios con idénticas condiciones que los laboratorios de riesgo moderado, a los que se agrega los siguientes requerimientos: a. aislamiento Se ingresa al laboratorio atravesando dos puertas de una antesala o de un laboratorio previo pequeño, que separa el laboratorio donde se realiza el cultivo e identificación del área pública y otras áreas de la institución	☐
b. autoclave ubicada dentro del laboratorio o en un laboratorio contiguo	☐
H.1.4 Exigible para cargado y amplificación del DNA y apertura de productos de amplificación para métodos moleculares con sistemas abiertos (LIPA) o métodos caseros	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en: a.tres áreas separadas físicamente (preparación de mezcla de amplificación, cargado del ADN y apertura de amplificados)	☐
b. el área de cargado del ADN cuenta con un área para la carga de DNA lejana a las otras dos áreas.	☐

c. el área de preparado de la mezcla de amplificación debe estar totalmente separada del área de apertura de amplificados	☐
d. espacios separados para la realización de la/s técnica/s e informes	☐
H.1.5 Exigible para la preparación de medios de cultivo sólidos y/o líquidos y/o reactivos	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en áreas: a. propias de un laboratorio de TB o áreas compartidas con la preparación de medios generales b. donde se consideren limpias de patógenos, separadas de áreas de manejo de muestras c. con pisos, paredes, techos, muebles y sillas tienen superficies de fácil limpieza. d. con mesada anti-vibración para la instalación de balanzas de precisión	☐ ☐ ☐ ☐
e. con la autoclave exclusivo para material limpio ubicado en el lugar o en otra área compartida de esterilización	☐
H.2 Renovación, acondicionamiento y direccionamiento del aire del laboratorio **H.2.1 Exigible a métodos de cultivo que no requieren concentración (Método de Ogawa-Kudoh)**	
Es adecuada cuando: a. el laboratorio cuenta con ventanas para renovar el aire o un extractor de aire que permite realizar de 6 a 12 cambios del volumen de aire por hora, no estando la corriente de aire dirigida a la mesada en la que se manipulan y siembran las muestras. b. si existe acondicionador de aire, el equipo no genera movimiento de aire en el área de manipulación y siembra de muestras	☐ ☐
H.2.2 Exigible para cultivo en medios sólidos o líquidos que entrañan procedimientos de licuefacción de las muestras y concentración de los bacilos, extracción de DNA y/o identificación de especie a partir de cultivos positivos	
Es adecuado cuando el áreapara el procesamiento de muestras para cultivo y/o extracción y cargado del DNA tiene a. aire direccionado (desde áreas limpias tomado por la Cabina de seguridad biológica en funcionamiento y expulsada por un ducto que filtra el aire por HEPA antes de ser expulsado al exterior), o existe otro sistema más complejo que logra este requisito asegurando al menos 6-12 cambios del volumen del aire del laboratorio/hora. b. acondicionamiento de aire seguro (acondicionador(es) de aire son de tipo split y no generan movimientos de aire frente a la CSB)	☐ ☐

H.2.3 Exigible para métodos moleculares con sistemas abiertos y/o métodos caseros	
Es adecuado cuando: a. las otras dos áreas (de preparación de mezcla de amplificación y de amplificación/detección) están separadas con ventilación independiente entre ellas	☐
H.3 Sistema de conexión	
a. Acceso a internet en forma continua b. Acceso a teléfono en forma continua	☐ ☐
H.4 Sistema de acondicionamiento temperatura del aire para el equipamiento **H.4.1 Exigible para cultivo en medios sólidos y/o líquidos donde se emplean métodos de licuefacción de la muestra y concentración de los bacilos por centrifugación**	
Es adecuada cuando la temperatura máxima y mínima del laboratorio se registra diariamente y donde se: a. encuentra el equipo de cultivo en medio líquido (MGIT 320/960) tiene un sistema de climatización que permite mantener la temperatura entre 19 y 30°C	☐
b. encuentra la centrifuga refrigerada para concentración de bacilos, tiene un sistema de climatización que permite mantener la temperatura a <20°C.	☐
c. trabaje con la cabina de seguridad biológica en una temperatura ambiente confortable para el trabajo con sistema de energía ininterrumpida (UPS)	☐
H.4.2 Exigible para la preparación de medios de cultivo sólidos y/o líquidos	
Es adecuado cuando el área conserva la temperatura adecuada para trabajar confortablemente a. con la presencia de estufa con ventilación forzada que asegure temperatura uniforme en su interior y/o coaguladores para la solidificación de medios a base de huevos y baños termostáticos.	☐
H.5 Iluminación y condiciones generales del área de trabajo	
a. La iluminación adecuada (se considera 500 LUX sin emisión de reflejos o brillos, lo que equivale a 50 Watt de una lámpara fluorescente para 5 m2)	☐
b. Paredes y techos están pintados, limpios y sin humedad	☐
c. Todas las áreas de trabajo se observan limpias, existe un servicio de limpieza diario	☐
Comentarios	

I. Manejo y trasporte de la muestra de esputo y/o aislamientos	
I.1 Recolección de la muestra **(Verificar las muestras recibidas en el día, ver si el volumen es adecuado, si existen derrames, si están bien acondicionadas, etc.) (Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)**	
a. El tipo de envase utilizado para la recolección de esputo ¿Cumple con las especificaciones técnicas normadas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. El rótulo de los envases con la identificación del paciente se halla en el costado del frasco y no en la tapa.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Ante una muestra salivosa se realiza la baciloscopia/ Xpert MTB/RIF y se indica en el informe que el estudio fue realizado utilizando una muestra salivosa.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.2 Recolección de aislamientos (Verificar que aislamientos son derivados, si vienen cerrados, si están bien rotulados y acondicionados)	
a. El tubo está bien cerrado, es de tapa a rosca con tapón de algodón más el tapón de goma. Además, están sellados con parafilm.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. El rótulo de los tubos está legible con la identificación del paciente, el número del laboratorio de origen.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.3 Conservación y transporte de la muestra **(Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)**	
a. ¿Están bien acondicionados los frascos con muestras que recibe el laboratorio, cumplimentando las normas locales para el envío de muestras? (Ej. transportadas en un contenedor fuerte, irrompible y cerrado, etiquetado con el símbolo internacional de riesgo biológico)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Si son referidas de otros centros, ¿arriban al laboratorio dentro de las 24 hs de la recolección de la muestra?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Las muestras son conservadas en lugar fresco, preferentemente en el refrigerador, hasta su procesamiento?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se guardan las muestras en un refrigerador distinto al que se guardan los reactivos (o al menos en un estante exclusivo)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

e. ¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de las muestras al laboratorio que las cultiva?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.4 Conservación y transporte de aislamientos	
a. ¿Están bien acondicionados los aislamientos que recibe el laboratorio, cumplimentando las normas locales para el envío de aislamientos? (Ej. transportadas en un triple contenedor etiquetado con el símbolo internacional de riesgo biológico, con el tubo del aislamiento acondicionado con material absorbente y/o anti-golpes)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se abren las cajas con los aislamientos en cabina de seguridad biológica para el caso que haya algún tubo roto?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se decontaminan por fuera las cajas triple envase con alcohol 70 y se autoclava el envase primario antes de reciclarlas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de los aislamientos al laboratorio que las derivan?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
J. Auditoria de prácticas	
J.1 Preparación de reactivos, medios a base de huevos/líquidos y conservación Pedirle, si es posible, al técnico que realice la operación. Observar el proceso, desde la pesada de los reactivos hasta la coagulación de los medios en el caso de medios a base de huevos. En caso de que no se tenga suficiente tiempo, realizar al menos estas preguntas sobre puntos críticos	
a. Registra los lotes de las drogas que son utilizadas para cada uno de los reactivos que elabora para las distintas técnicas.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. Registra el tiempo y temperatura de coagulación del medio (Considerar adecuado si la coagulación se realiza durante 45 minutos a 80-85°C)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Verifica la ausencia de burbujas abundantes en el medio. (Considerar que la presencia de ellas es un indicador de sobrecalentamiento)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Verifica la homogeneidad de color o ausencia de grumos de verde de malaquita (Considerar que la presencia de puntos verde significa una mala mezcla del medio)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. Realiza controles de esterilidad del medio (Considerar adecuado si luego de la coagulación, una muestra de tubos es incubada a 35-37°C durante 24 hs y luego a temperatura ambiente durante 48hs)	SI ☐ cada vez que se realiza un nuevo lote ☐ Nunca ☐ Comentarios ☐
f. Registra el tiempo de empleo del medio a partir de la fecha de preparación (Considerar adecuado si se emplea hasta 2 meses después de su preparación)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Conserva los medios elaborados en el lugar adecuado (Considerar colocarlos en la heladera limpia y frecuentemente desinfectada, dentro de cajas plásticas con la tapa de cada uno de los tubos herméticamente cerrada. No introducir cajas de cartón por la posibilidad de formación de hongos).	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas	
J.2 Procedimiento del cultivo Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo del método de cultivo que esté empleando. Observar el proceso	
a. ¿Se utiliza el procedimiento de digestión/decontaminación establecido normativamente para cada tipo de muestra? (Esputo, LBA, LB, LCR o biopsias)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se mantiene el orden recomendado para el procesamiento de muestras, procesando al final las muestras con baciloscopia positiva?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Es el tiempo de contacto entre el descontaminante y la muestra el que corresponde por la norma y se mide con cronómetro. (Considerar adecuado si este tiempo no supera los 30 minutos en el método de Petroff y 2 minutos en el método de Ogawa-Kudoh)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se agita al menos dos veces la mezcla de la muestra con el reactivo descontaminante en el método de Petroff durante el tiempo de incubación?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Cuántas muestras procesa por serie de cultivo? (Considerar adecuado si se procesan hasta 12 muestras por serie)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Controla que la velocidad de la centrífuga sea la sugerida por la normativa? (Considerar adecuado que al menos alcance a 3000g)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Controla la temperatura a la que llega la centrífuga durante su funcionamiento?(Considerar adecuado si no supera los 35ºC)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Controla la cantidad de muestra procesada a agregar al medio según lo establecido por la normativa? (Considerar adecuado si se siembran entre 0,2-0,5 ml por tubo al medio sólido neutro o acidificado y no más de 0,5 ml en los tubos MGIT)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Se realiza la inspección ocular de los tubos inoculados a las 48 hs de la siembra, a fin de verificar la contaminación de los cultivos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. ¿Cada cuánto se realiza la revisión de los cultivos para detectar crecimiento?	Semanal ☐ Quincenal ☐ Mensual ☐ Comentarios ☐

k. ¿Se hacen extendidos de colonias de cultivos positivos / medios líquidos con señal positivaantes de informar un resultado positivo del cultivo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
l. ¿Se espera la identificación a nivel CMTBC (por métodos moleculares) o al menos preliminar (mediante características morfológicas y prueba de catalasa a 68°C) antes de informar el desarrollo positivo en un cultivo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas	
J.3 Procedimiento de identificación de CMTB por inmunocromatografía lateral Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo de la prueba. Observar el proceso	
a. ¿Se realiza la extracción proteica en agua o buffer?	Agua ☐ Buffer ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se utilizan puntas con filtro para agregar el sobrenadante al cassette?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se realiza el procedimiento siguiendo los pasos establecidos en el inserto?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se espera el tiempo recomendado en el inserto para considerar un aislamiento como negativo para CMTB?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿La lectura de las bandas se realiza cuidadosamente por lo técnicos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Cada cuánto se realizan los controles de calidad interna? Considerar adecuado cuando dichos controles se realizan: - Concada nuevo lote de kits y con cada nuevo lote preparado de buffer de extracción. - Semanalmente, o con cada lote de pruebas de pacientes, si las pruebas se realizan con menos frecuencia.	Cada corrida ☐ Cada vez que cambia el lote ☐ Una vez al mes ☐ Comentarios ☐

g. ¿Que utiliza como control negativo y positivos?	Control negativo Agua ☐ Micobacteria no tuberculosa ☐ Control positivo Cepa H37Rv ☐ Aislamiento de CMTB ☐
Comentarios	
J. Auditoria de prácticas	
J.4 Procedimiento del ensayo con sonda en línea para identificación de CMTBC (Genotype MTBDR) Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo de la prueba. Observar el proceso	
a. ¿Se realiza la extracción del ADN a partir de aislamientos por calentamiento a 100°C?	Agua ☐ Buffer ☐ Comentarios ☐
b. ¿La temperatura del baño o twincubator es la establecida en el inserto?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c.¿Se espera que los buffers de hibridación y lavado estén a la temperaturarecomendada por el fabricante y se homogeneizanantes de su uso? (Se considera adecuado con los buffers de hibridación y de lavado profundo (buffer STR) fueron precalentados a 37°C-45°C, mientras que el resto de las soluciones alcanzaron la temperatura ambiente antes de su uso)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Es cuidadoso dispensando el buffer de hibridación precalentado para evitar salpicaduras a las canaletas vecinas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

e. ¿La lectura de las tiras se realiza cuidadosamente por los técnicos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. Los resultados se analizan evaluando los datos clínicos y epidemiológicos del paciente antes de informar	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Se analizan los resultados no válidos e indeterminados para tratar de descifrar el inconveniente.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. Los resultados no válidos o indeterminados se repiten.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. El informe se realiza según las normas.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

K. Seguridad en el laboratorio **Exigibles para cultivo e identificación de Complejo *M. tuberculosis***	
K.1 Prácticas de seguridad	
a. Manual de bioseguridad del laboratorio	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Empleo de desinfectantes recomendados para tuberculosis (fenol al 5%, hipoclorito de sodio al 1%, alcohol al 70%).	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Limpieza de al menos una vez antes de comenzar y al finalizar cada día de trabajo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Utilización de guantes de acuerdo a las normas de trabajo de bioseguridad general de los laboratorios.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. Utilización de respiradores (tipo N95 o FFP2).	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

f. Utilización de respiradores (tipo N95 o FFP2), cuando no se empleen en la rutina de trabajo, para su uso en caso de derrames.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Planilla de disponibilidad y uso de los elementos de protección personal para cada agente	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. Desecho de residuos patológicos y todos los elementos utilizados para las distintas metodologías por métodos recomendados (autoclavado o tratamiento con hipoclorito de sodio antes de su disposición con el resto de los residuos patológicos de la institución o, descarte de soluciones en envases especiales para residuos líquidos). El material trasladado para autoclavado debe transportarse en contenedores seguros.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. Descarte y transporte del material (potencialmente infeccioso) en contenedores seguros que resistan el autoclavado y autoclavado del material contaminado diariamente durante 1 hora a 121ºC.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. Indicadores químicos para esterilización por calor (autoclavado)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Frecuencia de uso: .....
k. Indicadores bilógicos para estilización por calor (autoclavado)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Frecuencia de uso: .....
l. Kit en caso de derrames que contenga: una bolsa autoclavable, guantes, batas, desinfectantes apropiados, respiradores N95 o FFP2, algodón y papel adsorbente, jabón, palita para recoger residuos, contenedor para cortopunzantes, cartel de NO INGRESAR)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. Norma escrita para el manejo de desechos de peligro biológico y desechos químicos regulados	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
K.2 Seguridad del personal (Obviar si ya ha sido completado en Anexo A.1)	
a. Programa regular anual de control médico para los trabajadores de salud, siguiendo la normativa laboral vigente en el país (Si no hubiera política adoptada, el supervisor debe asegurar que el personal de laboratorio tenga como mínimo una evaluación médica anual que puede incluir examen radiológico de tórax).	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Conoce y tiene disponible instrucciones escritas para accidentes o incidentes (puede estar incluido en el manual/POE de Bioseguridad del laboratorio)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐

c. Programa de entrenamiento de seguridad / bioseguridad inicial con registros de participación del personal del laboratorio.	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

L. Derivación de muestras y/o aislamientos	
L.1 Exigibles para cultivo e identificación de Complejo *M. tuberculosis* Dependiendo del algoritmo diagnóstico establecido en cada país, un mismo paciente podría ser estudiado por una o más de estas técnicas	
a. ¿Se derivan para identificación de CMTB o prueba de sensibilidad todas las muestras indicadas por las normas? Los siguientes aislamientos se consideran adecuados para su derivación - cultivos positivos con características culturales compatibles con MTB o ya identificado como CMTB de pacientes con: •historia de tratamiento previo (recaídas, fracasos, perdida en seguimiento) •antecedentes de contactos con pacientes con TB multirresistente o extensamente resistente • baciloscopía positiva al finalizar el segundo mes de tratamiento o en un control posterior • casos diagnosticados con baciloscopía negativa y que convierten a positiva su baciloscopía durante el tratamiento •inmunosupresión particularmente VIH positivos y diabéticos •con exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (internados o trabajadores de instituciones de salud o de prisiones donde se registran casos con tuberculosis resistente) • residencia anterior en países con alto nivel de resistencia a drogas (Ecuador, Perú, algunos países asiáticos y de Europa del Este). •adicción al alcohol y/o a otras drogas •edad menor a 15 años (niños) •intolerancia a drogas	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. ¿Se derivan muestras al LNR cuando se identifica una muestra con un resultado de Xpert TB/RIF o Genotype MTBDR que indica monorresistencia a rifampicina o isoniacida o multirresistencia, para confirmar la identificación y la/s resistencia/s y realizar pruebas de sensibilidad al resto de las drogas de primera y segunda línea?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de los aislamientos al laboratorio que realiza identificación y pruebas de sensibilidad?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Laboratorio al que se derivan muestras para identificación y/o pruebas de sensibilidad	.....
e. ¿Cuál es el tiempo promedio que demoran en recibir resultados de los estudios derivados?	Cultivo e identificación ..... días Xpert MTB/RIF ..... días Lipas: ..... días Prueba de sensibilidad (métodos fenotípicos) a Rifampicina .....días a Isoniacida .....días a drogas de segunda línea .....días
Comentarios	

M. Otras observaciones
El personal del laboratorio manifestó las siguientes inquietudes en relación a su laboratorio de referencia..... ....

Conclusiones
Se destacan las siguientes fortalezas .... Se destacan los siguientes desafíos o medidas correctivas a implementar prioritariamente por las autoridades .... por el personal de laboratorio..... .... Se identificaron las siguientes necesidades de entrenamiento..... .... Acuerdos alcanzados en relación a los desafíos .... Nombre y firma del supervisor/es: ..... Nombre y firma del responsable del laboratorio: ..... Fecha: ..... /...../.....

Anexo A.3: Guía para visita técnica para laboratorios que realizan prueba de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea

Esta guía ha sido desarrollada para apoyar el trabajo de los supervisores durante la visita técnica a los laboratorios que realizan estos métodos. Si el laboratorio realiza la detección de resistencia a rifampicina y/o isoniacida por métodos moleculares con sistema cerrado (Xpert MTB/RIF o Xpert MTB Ultra/Rif) o abierto (LIPA) remitirse a las preguntas presentadas en el Anexo A.1 y A.2. Recordar que en el caso de haber completado el Anexo A.1 y/o el A.2, se deben obviar las preguntas comunes a varias metodologías; las mismas han sido identificadas con un asterisco, de manera que pueden ser fácilmente reconocidas en el documento.

Los contenidos de las preguntas abarcan algunos puntos de gestión de calidad de manera tal que los laboratorios vayan incorporando estas prácticas en su rutina de trabajo.

Tabla de Contenidos

Sumario del del Informe del Laboratorio 165
A Actividades del Laboratorio 166
B Documentos para la estandarización de procedimientos 167
C Pruebas de desempeño 169
D Manejo de datos del laboratorio 170
E Monitoreo de indicadores de desempeño 173
F Abastecimiento y conservación de material 175
G Equipos 178
H Características del laboratorio 182
I Manejo y trasporte de la muestra de esputo 184
J Auditoria vertical de POE/Práctica 186
K Seguridad en el laboratorio 194
L Derivación de muestras 197
M Otras observaciones y Conclusiones 199

Sumario del laboratorio visitado

Laboratorio visitado: .....

Localidad: .....

Provincia/Estado/Departamento: .....

Responsable del laboratorio: .....

Fecha de la visita: ..... / ..... / .....

Fecha de la anterior visita: ..... / ..... / .....

Personal dedicado al diagnóstico de tuberculosis

	Número	Horas diarias/persona dedicadas al diagnóstico de tuberculosis
Profesionales		
Técnicos		
Auxiliares técnicos		
Administrativos		

Nombre de profesionales/técnicos entrevistados: .....
.....
.....

Entrenamiento en diagnóstico de TB recibido en los últimos 3 años.....
.....
.....

Comentarios:

A. Actividades del laboratorio

A continuación, marque las celdas que correspondan a las actividades desarrolladas en su laboratorio. Donde corresponda, complete los datos solicitados		
a. Prueba de sensibilidad en medio sólido para detectar resistencia a isoniacida y rifampicina	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
b. Prueba de sensibilidad en medio líquido para detectar resistencia a isoniacida y rifampicina	Número estimado de pruebas por mes ___	☐ ☐
c. Prueba de sensibilidad en medio sólido para detectar resistencia a etambutol amicacina kanamicina capreomicina levofloxacina moxifloxacina otras.....	Número estimado de pruebas por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___	☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐
d. Prueba de sensibilidad en medio líquido para detectar resistencia a etambutol amicacina kanamicina capreomicina levofloxacina moxifloxacina otras.....	Número estimado de pruebas por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___ por mes ___	☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐
e. Prueba de sensibilidad a pirazinamida por el método de Wayne	Número estimado de pruebas por mes ___	☐

f. Prueba de sensibilidad a pirazinamida por el método líquido	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
h. Preparación de medios de cultivo con drogas	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
i. Otros	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
j. ¿Recibe muestras o aislamientos derivada/ os de otros centros de salud?	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
k. ¿Deriva aislamientos a laboratorios de referencia para pruebas de mayor complejidad? En caso de que sí, mencione a quién/es deriva:	Número estimado de pruebas por mes ___	☐
l. Tiene algún proceso en etapa de acreditación acreditado	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	☐
Comentarios		

B. Documentos para la estandarización de procedimientos
Exigibles para la prueba de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea

B.1 Organigrama y normas técnicas	
a. *Organigrama incluyendo a todo el personal del laboratorio involucrado en las actividades de diagnóstico de TB resistente	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. *Descripción de responsabilidades de cada trabajador y sistemas de reemplazos.	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Manual de procedimientos para todas las técnicas que realiza	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

d. *Algoritmo/s de trabajo d.1 Del PNT d.2 Internos del laboratorio	Disponible: SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
B.2 Procedimientos operativos estándar (POEs) Disponibilidad de POEs (que consideren la técnica, eliminación de residuos patológicos y químicos, mantenimiento de los equipos necesarios, controles de calidad interno y evaluación externa de calidad) para:	
a. Preparación de medios y/o reactivos	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
b. Prueba de sensibilidad a drogas anituberculosis de primera línea (rifampicina y/o isoniacida) que se utiliza/n Método.....	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
c. Prueba de sensibilidad a drogas anituberculosis de segunda línea (etambutol, inyectables y/o quinolonas) que se utiliza/n Método.....	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
d. Prueba de sensibilidad a pirazinamida Método.....	Disponible en el área de trabajo: SI ☐ NO ☐ No corresponde ☐ Comentarios☐ Versión actualizada: SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Incompleto ☐ Comentarios ☐
e. *¿Se revisan los POE periódicamente y se corrigen adecuadamente cuando es necesario?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. *¿Se retiran y archivan las versiones de POEs que fueron sustituidas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

g. *¿Todo el personal está informado de los contenidos de los POEs del Laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. *¿Se dispone de POE/Manual de bioseguridad del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

C. Pruebas de desempeño Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea	
C.1 Estudios de validación/verificación	
a. ¿Se realizó la validación (métodos no normalizados, métodos diseñados o desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados utilizados fuera de su campo de aplicación prevista o métodos validados subsiguientemente modificados) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
b. ¿Se realizó verificación (métodos comerciales validados utilizados sin modificaciones) antes de iniciar su utilización para el diagnóstico de rutina? (especifique las técnicas y los parámetros validados/verificados (sensibilidad (S), especificidad (E), eficiencia (Efi), reproducibilidad (R))	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Técnicas y parámetros ....
c. ¿Existen registros que documente estas validaciones o verificaciones?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
C.2 Evaluación externa de calidad (EEC)	
Para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea	
a. ¿Participa el laboratorio en exámenes de competencia externa?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. ¿Las pruebas correspondientes a la EEC son realizadas y/o recolectadas por los laboratoristas que las ejecutan y/ analizan en la rutina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Especificar.....
c. ¿Los resultados de los últimos dos años muestran calidad aceptable?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Especificar.....
d. ¿En los resultados de los dos últimos años se reitera algún tipo de desvío o mala calidad?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Indique el tipo de desvío .....
e. ¿Son los resultados del EEC difundidos entre el staff del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Existe evidencia documentada de la difusión?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
D. Manejo de datos del laboratorio (Formularios, instrucciones, registros e informes) **Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea**	
D.1 Formularios: Solicitud de estudios bacteriológicos y/o moleculares Seleccione 20 formularios, revíselos y responda	
a. *¿Usan los formularios según la norma del PNT?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. *¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *¿Se reciben completos, en general? (al menos 80% de los datos)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. *¿Se archivan físicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. *¿Son escaneados y archivados en computadora?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

D.2 Registro de datos - Sistema de información de laboratorio (SIL) Obviar si se respondió en el Anexo A.1 o A.2			
a. *¿Tiene información básica requerida por las normas del PNT?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
**b. ***Si se emplean registros en papel			
b.1. ¿Están foliados?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
**c. ***Si se emplean registros digitales			
c.1. ¿Existe un sistema exclusivo para TB?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c.2. ¿Está completo con las muestras recibidas, al menos del día anterior?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c.3. ¿Hay un sistema de resguardo para el SIL de soporte digital? (describir en comentarios cómo se realiza)	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
d. *¿Cada muestra y/o cultivo u aislamiento mantiene un número único para todos los procedimientos que se realizan con ella?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
e. ¿La cantidad de registros es racional, no genera sobrecarga innecesaria de trabajo?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
f. *¿El acceso al SIL está limitado a personal autorizado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
g. *¿Hay un POE escrito para el uso del SIL?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
Registro de derivación de muestras a. *¿Tiene diseño adecuado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. *¿Está completo con la información necesaria y es legible?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
Registros relacionados con la Bioseguridad			
a. *¿Existe un registro de accidentes/incidentes adecuado?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. *¿Existe un registro de entrega de elementos de protección personal para cada operador?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c. *¿Existe un registro de control médico anual del personal?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
D.4 Informes Seleccione 20 informes, revíselos y responda			
a. *¿Los informes de laboratorio identifican al laboratorio que realiza las pruebas?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
b. *¿Los informes de laboratorio, identifican el/los métodos empleados?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐
c. *¿Se ha designado a determinadas personas para emitir Informes de Resultados?	SI ☐	NO ☐	Comentarios ☐

d. *¿Son verificados los informes por un segundo personal?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. *¿Archiva el laboratorio los datos de resultados (resultados impresos, registros electrónicos)? En caso de que sí, expliquen cómo se archivan y por cuánto tiempo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Se archivan..... Tiempo.....
f. *¿Los informes archivados son solamente accesibles al personal autorizado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. Estimación del tiempo demora desde la realización de la PS hasta la emisión del informe Tomar 20 resultados producidos durante el último mes	Prueba de sensibilidad (Análisis de 20 resultados de PS) 1. Informes de resultados Para PS en Löwenstein Jensen N° informes analizados ..... Dentro de los 42 díasN° ..... Para PS en en agar Middlebrook, N° informes analizados ..... Dentro de los 23 díasN° ..... Para PS en MGIT N° informes analizados ..... Dentro de los 16 díasN° ..... Se considera adecuado cuando al menos el 95% de los informes fueron emitidos en los plazos establecidos arriba. Comentarios ☐
h. Estimación del tiempo desde la recepción de la muestra o aislamiento/ positivización del cultivo hasta la emisión del informe Tomar 20 resultados producidos durante el último mes	1- Informe de métodos moleculares 1.1- informe de rifampicina por sistema cerrado (ver anexo A.1-D4-G) 1.2-Informe de isoniacida y rifampicina por sistema abiertos (ver anexo A.2-D4-G)

	1.3-Informe de inyectables y quinolonas por sistema abiertos (LIPA) (*) Menos de 48 hs ☐ Entre 48 y 96 hs ☐ Más de 96 hs ☐ (*) Para el cálculo del tiempo de respuesta se toma comotiempo 0, la fecha en donde se detectó la resistencia a rifampicina y/o isoniacida por cualquier método fenotípico y/o genotípico Comentarios ☐
i. ¿Los informes contienen un ítem de observaciones en donde se especifique (en los casos de detección de resistencia a rifampicina y/o isoniacida) al menos que las muestras y/o aislamientos fueron derivados a otros laboratorios para el estudio de susceptibilidad a drogas de segunda línea?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
E. Monitoreo de Indicadores de desempeño Registrar los siguientes parámetros para el total de los últimos tres meses o, si la carga de trabajo es elevada, para el último mes previo a la visita **Para el caso de detección de resistencia a rifampicina por sistemas cerrados completar el anexo A.1 y para la detección de isoniacida y rifampicina por sistemas abiertos completar el anexo A-2**	
E.1 Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea	
a. Pruebas realizadas	Número..... Comentarios ☐

b. Número y proporción de muestras y/o aislamientos que resultaron con	
Resistencia a rifampicina	Número..... %..... Comentarios ☐
Multiresistencia (MDR)	Número..... %..... Comentarios ☐
MDR más resistencia a quinolonas	Número..... %..... Comentarios ☐
MDR más resistencia a inyectables de segunda línea	Número..... %..... Comentarios ☐
TB extensamente resistente (MDR, más resistencia a inyectables de segunda línea y quinolonas)	Número..... %..... Comentarios ☐
c. Número y proporción de pacientes con muestras y/o aislamientos que resultaron con	
Monoresistencia a rifampicina	Número..... %..... Comentarios ☐
Multiresistencia (MDR)	Número..... %..... Comentarios ☐
MDR más resistencia a quinolonas	Número..... %..... Comentarios ☐
MDR más resistencia a inyectables	Número..... %..... Comentarios ☐
TB extensamente resistente (MDR, más resistencia a inyectables y quinolonas)	Número..... %..... Comentarios ☐
d. ¿Analiza esta información periódicamente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Envía esta información al laboratorio de referencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. Si la respuesta es **Si**, ¿con qué periodicidad?	Tiempo..... Comentarios ☐
g. ¿Se informa de manera inmediata al PNT los casos identificados como multirresistentes, resistentes a rifampicina, pero no a INH y con TB extensamente resistente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
E.2 Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea por métodos fenotípicos	
a. Número y proporción de aislamientos que resultaron contaminados por métodos fenotípicos. Se considera adecuado cuando este valor no excede el 3%	Número..... %..... Comentarios ☐
b. Número y proporción de aislamientos que resultaron con resultado no interpretables (falta de crecimiento o crecimiento insuficientes en los controles) o inválidos (falta de correlación en el número de colonias entre las diluciones utilizadas) por métodos fenotípicos. Se considera adecuado cuando este valor no excede el 3%	Número..... %..... Comentarios ☐
E.3 Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de segunda línea por métodos moleculares	
a. Pruebas realizadas	Número..... Comentarios ☐
b. Número y proporción de muestras y/o aislamientos con resultados no interpretables (inválidos e indeterminados) por sistema molecular abierto (LIPA). Se considera adecuado cuando este valor no excede el 5%	Número..... %..... Comentarios ☐

c. Pruebas con resultado MTB detectado y sólo resistencia a inyectables detectada	Número.....	Comentarios ☐
d. Pruebas con resultado MTB detectado y sólo resistencia a quinolonas detectada	Número.....	Comentarios ☐
e. Pruebas con resultado MTB detectado y TB extensamente resistente	Número.....	Comentarios ☐

Comentarios

F. Abastecimiento y conservación de material para la realización de las distintas técnicas
Para el caso de métodos de detección cerrados responder en Anexo A.1

F.1 Insumos
Se considera que el suministro es adecuado cuando existe disponibilidad actual y no ha existido ninguna falta durante los últimos 6 meses

F.1.1 Comunes a preparación de medios y realización para pruebas de sensibilidad

	Disponible		Suministro adecuado	
	SI	NO	SI	NO
a. Antibióticos				
b. Tubos *eppendorf* de 2 ml para la conservación de stock de drogas				
c. *Tubos o frascos para la preparación de medios de cultivo con drogas y para la distribución de agua para diluciones				
d. *Marcadores				
e. *Agua destilada				
f. *Gradillas, cestos y bandejas				
g. *Recipientes para autoclavar material				
h. *Elementos de protección personal Guantes..... Mascarillas N 95/100..... Tyvec o bata impermeable a salpicaduras				

F.1.2 Para preparación de medios y/o reactivos para distintas metodologías				
a. *Material de vidrio para medición y almacenamiento (Erlenmeyer, probetas, vaso de precipitado, tubos)				
b. Material descartable para la distribución de medios (placas de Petri)				
c. *Sistemas manuales o automáticos para dispensar medios				
d. *Pipetas descartables de 10 ml				
e. *Tiras para medir PH en distintos rangos				
1.3 Exigibles para métodos fenotípicos				
a. Solución Patrón de turbidez Mc Farland 1 o BCG 1mg/ml				
b. Frascos de 5 a 10 ml con 5 perlas de vidrio y tapa a rosca				
c. *Pipetas Pasteur descartables				
d. *Asas bacteriológicas descartables estériles				
e. *Pipetas descartables de 2 ml				
f. *Dispositivos para pipetear (peritas de goma, propipetas de goma o eléctricas)				
g. *Recipientes para el autoclavado y descarte de material (pipetas, ansas y puntas con protección)				
h. *Recipientes para el autoclavado y reciclado de material (tubos y frascos)				
i. *Bolsas plásticas para la incubación de placas inoculadas (método de proporciones en medio Middelbrook 7H10)				
j. Reactivos para la detección de viabilidad o compuestos de actividad bacilo (método nitrato reductasa (Griess) o prueba de Wayne)				
k. *Tubos, reactivos y portatubos para cultivo en MGIT				
F.1.4 Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas de segunda línea por métodos moleculares abiertos. Obviar en el caso de haber respondido el Anexo A.2 F 1.5.				
a. *Equipo de extracción				
b. Equipo LIPA				
c. Reactivos para la mezcla de amplificación (buffers, taq polimerasa, nucléotidos, cebadores)				
d. *Agua destilada Milli-Q o bidestilada (calidad biología molecular)				
e. *Tubos de 0,2 ml pared ultra-fina				
f. *Tubos eppendorf de 1,5 ml				

g. *Puntas descartables con protección de aerosoles de 20 µl, 100 µl y 1000 µl				

F.2 Conservación de Insumos		
Exigibles para pruebas de sensibilidad fenotípicas		
	Disponible	
	SI	NO
a. Antibióticos en estado puro conservados a la temperatura establecida por el fabricante y dentro de la fecha de vencimiento Temperatura ambiente 4°C -20°C		
b. Stock de antibióticos diluidos a -20°C		
c.Reactivos En recipientes limpios y protegidos de la luz, Correctamente identificados		
d. Agua destilada en recipientes limpios		
e. Reactivos para pruebas en MGIT		
Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas de segunda línea por métodos moleculares abiertos (LIPA) *Obviar de haber completado el ítem F 2 del Anexo A.2.*		
a. *Los reactivos para la identificación de los amplicones por hibridación reversa son conservados a una temperatura controlada entre 2 y 8°C en área de apertura de amplicones		
b. *Los reactivos para la reacción de amplificación de ácidos nucléicos o de los de la mezcla del método casero son conservados a una temperatura controlada entre -20 °C en área de preparación de mezcla		
c.*Agua ultra pura Milli-Q en alícuotas		
d. *Los reactivos para corrida electroforética y para la carga y revelado de amplicones son conservados a temperatura ambiente en área de apertura de amplicones		
Comentarios		

G. Equipos Verifique lo siguiente según aplique a equipo usado para actividades de laboratorio específicas de estudios, marcando en Si o No, según corresponda (Enumere el fabricante, modelo y fecha de instalación del mismo en el registro de preventivos) ***Obviar aquellos ítems que han sido completado en el Anexo A.1 y A.2***		
Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea		
	SI	**NO**
G.1 Refrigerador		
a. *Se realizan y documentan las actividades de mantenimiento preventivo (limpieza y desinfección).	☐ Frecuencia.....	☐
b. *¿Se toman y documentan lecturas de temperatura?	☐ Frecuencia.....	☐
c. *¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango.....	☐
d. *¿Hay documentación de acciones correctivas hechas en respuesta a valores fuera de rango?	☐	☐
G.2 Freezer		
a. *Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo.	☐ Frecuencia.....	☐
b. *¿Se toman y documentan lecturas de temperatura?	☐ Frecuencia.....	☐
c. *¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango.....	☐
d. *¿Hay documentación de acciones correctivas hechas en respuesta a valores fuera de rango?	☐	☐
G.3 Autoclave		
a. *¿Se realizan chequeos anuales para verificar la completa esterilización de los materiales autoclavados, prueba hidráulica y verificación de válvulas?	☐	☐
b. *¿Se registran los ciclos de esterilización diarios?	☐	☐
c. *¿Se utilizan tiras físico-químicas como control de esterilidad en cada ciclo realizado?	☐	☐
d. *¿Se utilizan controles biológicos semanales o mensuales como control de esterilidad?	☐ Frecuencia de uso:	☐

Exigibles para preparación de medios con drogas para métodos fenotípicos **G.4 Estufa de coagulación de medios a base de huevos o coagulador**		
a. *Trabaja constantemente a 80-85ºC, con un sistema de baño de agua alrededor de cada estante o ventilación forzada que asegure temperatura uniforme en su interior	☐	☐
b. *Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo.	☐ Frecuencia:	☐
c. *¿Existen registros de control de temperatura del proceso de coagulación?	☐ Frecuencia:	☐
G.5 Balanza		
a. *¿Se realiza y documenta diaria y anualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
b. *¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c. *¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐ Frecuencia :	☐
G.6 Baños termostáticos		
a. *¿Tiene control electrónico de temperatura?	☐	☐
b. *Realizan y documentan las actividades/servicios de mantenimiento preventivo	☐	☐
c. *¿Existen registros de control de temperatura de cada proceso?	☐ Frecuencia :	☐
Exigibles para pruebas fenotípicas **G.7 Pipetas automáticas**		
a. *Realizan y documentan anual o bianualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo	☐	☐
b. *¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c. *¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐ Frecuencia :	☐
G.8 Vortex		
a. *Realizan y documentan anualmente actividades/ servicios de mantenimiento preventivo.	☐	☐

G.9 Cabina de seguridad biológica		
a. *¿Es alguno de estos modelos? Clase I (EN12469/NSF49) Clase IIA2 (NSF49) o Clase II (EN12469)	Modelo ..... ☐ ☐	 ☐ ☐
b. *¿Tiene ducto al exterior?	☐	☐
c. *¿Está certificada(s) al menos anualmente? (verificar certificados)	☐	☐
d. *¿El equipo cuenta con un sistema de alimentación de corriente eléctrica ininterrumpida (UPS)?	☐	☐
e. *¿Realizan y documentan anualmente el uso del equipo y actividades/servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
f. *¿Realizan y documentan diariamente la limpieza y funcionamiento?	☐	☐
G.10 Centrífuga		
a. *¿Es refrigerada con rango de temperatura entre 4 y 12°C y alcanza una velocidad de al menos 3000 g?	☐	☐
b. *¿Tiene portatubos cubiertos con tapa y son autoclavables?	☐	☐
c. *¿Tiene registro de uso y temperatura de cada corrida?	☐	☐
d. *¿Cuenta con un sistema de alimentación ininterrumpida (UPS)?	☐	☐
e. *¿Realizan y documentan diariamente el uso del equipo y anualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo?	☐	☐
G.11 Cámara o estufa de cultivo		
a. *¿Tiene suficiente espacio para la carga de trabajo que maneja el laboratorio?	☐	☐
b. *¿Tiene control de temperaturas mínima y máxima con equipos que detecten variaciones de ± 1ºC?	☐ Frecuencia :	☐
c. *¿Se han establecido y documentado límites de tolerancia para las lecturas de temperatura?	☐ Rango:	☐
d. *¿Existen registros de la temperatura y se analizan las variaciones que ocurren?	☐	☐
e. *¿Tiene suficiente espacio para la carga de trabajo que maneja el laboratorio?	☐	☐

G.12 Equipo Bactec 320/960		
a. *¿Tiene computadora asociada con instalación del último software?	☐	☐
b. *¿Cuenta el equipo y la computadora con un sistema de alimentación de energía eléctrica ininterrumpida (UPS)?	☐	☐
c. *¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según lo descrito por el fabricante?	☐	☐
d. *¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐
e. *¿Existen y se revisan los registros de calibración y mantenimiento?	☐ Frecuencia :	☐
G.13 Cronómetro		
a. *¿Se llevan a cabo procedimientos de calibración según es descrito por el fabricante?	☐	☐
b. *¿Existen y se revisan los registros de calibración?	☐	☐
Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas de segunda línea por métodos moleculares abiertos (LIPA). *Obviar si se completó el ítem G del Anexo A.2* **G.14 Termociclador**		
a. *¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐
b. *¿Se llevan a cabo procedimientos de verificación de temperatura del bloque térmico mediante por sondas externas según es descrito por el fabricante?	☐	☐
c.*Existen y se revisan los registros de calibración	☐ Frecuencia :	☐
G.15 Twincubator		
a. *¿Se realiza y registra el mantenimiento del equipo en los períodos establecidos por el fabricante (diario, semanal, mensual)?	☐	☐
G.16 Microcentrífuga (para el caso de realizar la prueba a partir de aislamientos)		
a. *Realizan y documentan diariamente el uso de equipo y anualmente actividades/servicios de mantenimiento preventivo.	☐	☐
b. *¿Es refrigerada?	☐	☐

Comentarios	
H. Características del laboratorio (Infraestructura básica, bioseguridad, ubicación de las tareas según el nivel de riesgo biológico) Marque las celdas que correspondan a las características de su laboratorio) Obviar en caso de haber completado los puntos del Anexo A.2 para laboratorios de alto riesgo (que manipulan aislamientos para la realización de identificación de especie o pruebas moleculares) y sistemas moleculares abiertos	
H.1 Lugar dónde se procesan los aislamientos para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea	
H.1.1 *Exigible para pruebas de sensibilidad fenotípica y extracción de DNA a partir de aislamientos (Laboratorios de riesgo alto)	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en laboratorios con idénticas condiciones que los laboratorios de riesgo moderado(ver requerimientos descriptos en el ítem H.1.2 del Anexo A.2), a los que se agrega los siguientes requerimientos: a. aislamiento Se ingresa al laboratorio atravesando dos puertas de una antesala o de un laboratorio previo pequeño, que separa el laboratorio donde se realiza el cultivo e identificación del área pública y otras áreas de la institución	☐
b. autoclave ubicada dentro del laboratorio o en un laboratorio contiguo	☐
H.1.2 *Exigible para cargado y amplificación del DNA y apertura de productos de amplificación para métodos moleculares con sistemas abiertos (LIPA)	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en: a.tres áreas separadas físicamente (preparación de mezcla de amplificación, cargado del ADN y apertura de amplificados)	☐
d. el área de cargado del ADN cuenta con un área para la carga de ADN lejana a las otras dos áreas.	☐
e. el área de preparado de la mezcla de amplificación debe estar totalmente separada del área de apertura de amplificados	☐
d. espacios separados para la realización de la/s técnica/s e informes	☐

H.1.3 *Exigible para la preparación de medios de cultivo sólidos y/o líquidos y/o reactivos	
Es adecuado cuando estas tareas son realizadas en áreas: a. propias de un laboratorio de TB o áreas compartidas con la preparación de medios generales b. donde se consideren limpias de patógenos, separadas de áreas de manejo de muestras c. con pisos, paredes, techos, muebles y sillas tienen superficies de fácil limpieza. d. con mesada anti-vibración para la instalación de balanzas de precisión	☐ ☐ ☐ ☐
e. con la autoclave exclusivo para material limpio ubicado en el lugar o en otra área compartida de esterilización	☐
H.2 Renovación, acondicionamiento y direccionamiento del aire del laboratorio **H.2.1 *Exigible para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea por métodos fenotípicos y extracción de ADN a partir de asilamientos**	
Es adecuado cuando el áreapara el procesamiento de aislamientos o y/o extracción y cargado del DNA tiene a. aire direccionado (desde áreas limpias tomado por la Cabina de seguridad biológica en funcionamiento y expulsada por un ducto que filtra el aire por HEPA antes de ser expulsado al exterior), o existe otro sistema más complejo que logra este requisito asegurando al menos 6-12 cambios del volumen del aire del laboratorio/hora. b. acondicionamiento de aire seguro (acondicionador(es) de aire son de tipo split y no generan movimientos de aire frente a la CSB)	☐ ☐
H.2.3 *Exigible para métodos moleculares con sistemas abiertos y/o métodos caseros	
Es adecuado cuando: a. las otras dos áreas (de preparación de mezcla de amplificación y de amplificación/detección) están separadas con ventilación independiente entre ellas	☐
H.3 *Sistema de conexión	
a. Acceso a internet en forma continua b. Acceso a teléfono en forma continua	☐ ☐
H.4 *Sistema de acondicionamiento temperatura del aire para el equipamiento **H.4.1 Exigible para pruebas fenotípicas**	
Es adecuada cuando la temperatura máxima y mínima del laboratorio se registra diariamente y donde se: a. halla el equipo de cultivo en medio líquido (MGIT 320/960) tiene un sistema de climatización que permite mantener la temperatura entre 19 y 30°C	☐
b. halla la centrifuga refrigerada para concentración de bacilos, tiene un sistema de climatización que permite mantener la temperatura a <20°C.	☐

c. trabaje con la cabina de seguridad biológica en una temperatura ambiente confortable para el trabajo con sistema de energía ininterrumpida (UPS)	☐
H.4.2 *Exigible para la preparación de medios de cultivo sólidos y/o líquidos	
Es adecuado cuando el área conserva la temperatura adecuada para trabajar confortablemente a. con la presencia de estufa con ventilación forzada que asegure temperatura uniforme en su interior y/o coaguladores para la solidificación de medios a base de huevos y baños termostáticos.	☐
H.5 *Iluminación y condiciones generales del área de trabajo	
a. La iluminación adecuada (se considera 500 LUX sin emisión de reflejos o brillos, lo que equivale a 50 Watt de una lámpara fluorescente para 5 m2)	☐
b. Paredes y techos están pintados, limpios y sin humedad	☐
c. Todas las áreas de trabajo se observan limpias, existe un servicio de limpieza diario	☐
Comentarios	

I. Manejo y transporte de la muestra de esputo y/o aislamientos Obviar si se respondió este ítem en el Anexo A.1 o Anexo A.2	
I.1 Recolección de la muestra **(verificar las muestras recibidas en el día, ver si el volumen es adecuado, si existen derrames, si están bien acondicionadas, etc.)**	
a. *El tipo de envase utilizado para la recolección de esputo ¿Cumple con las especificaciones técnicas normadas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. El rótulo de los envases con la identificación del paciente se halla en el costado del frasco y no en la tapa.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.2 Manejo de los aislamientos (Verificar que aislamientos son derivados, si vienen cerrados, si están bien rotulados y acondicionados)	
a. *El tubo está bien cerrado, es de tapa a rosca con tapón de algodón más el tapón de goma. Además, están sellados con parafilm.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. *El rótulo de los tubos está legible con la identificación del paciente, el número del laboratorio de origen.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.3 Conservación y transporte de la muestra	
a. *¿Están bien acondicionados los frascos con muestras que recibe el laboratorio, cumplimentando las normas locales para el envío de muestras? (Ej. transportadas en un contenedor fuerte, irrompible y cerrado, etiquetado con el símbolo internacional de riesgo biológico)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. *Si son referidas de otros centros, ¿arriban al laboratorio dentro de las 24 hs de la recolección de la muestra?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *¿Las muestras son conservadas en lugar fresco, preferentemente en el refrigerador, hasta su procesamiento?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. *¿Se guardan las muestras en un refrigerador distinto al que se guardan los reactivos (o al menos en un estante exclusivo)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
I.4 Conservación y transporte de aislamientos	
a. *¿Están bien acondicionados los aislamientos que recibe el laboratorio, cumplimentando las normas locales para el envío de aislamientos? (Ej. transportadas en un triple contenedor etiquetado con el símbolo internacional de riesgo biológico, con el tubo del aislamiento acondicionado con material absorbente y/o anti-golpes)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. *¿Se abren las cajas con los aislamientos en cabina de seguridad biológica para el caso que haya algún tubo roto?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *¿Se decontaminan por fuera las cajas triple envase con alcohol 70% y se autoclava el envase primario antes de reciclarlas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. *¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de los aislamientos al laboratorio que las derivan?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas	
J.1 Preparación de reactivos, medios a base de huevos/líquidos y conservación Pedirle, si es posible, al técnico que realice la operación. Observar el proceso, desde la pesada de los reactivos hasta la coagulación de los medios en el caso de medios a base de huevos. En caso que no se tenga suficiente tiempo, realizar al menos estas preguntas sobre puntos críticos	
a. Registra los lotes de los compuestos químicos que son utilizadas para cada uno de los reactivos que elabora para las distintas técnicas.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. Registra los lotes de drogas o compuestos químicos utilizadas para cada preparación de medios sólidos y/o líquidos	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Registra el tiempo y temperatura de coagulación del medio (Considerar adecuado si la coagulación se realiza durante 45 minutos a 80-85ºC)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. Verifica la ausencia de burbujas abundantes en el medio. (Considerar que la presencia de ellas es un indicador de sobrecalentamiento)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. Verifica la homogeneidad de color o ausencia de grumos de verde de malaquita (considerar que la presencia de puntos verde significa una mala mezcla del medio)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Se utilizan las concentraciones criticas de las drogas recomendadas por OMS?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g.Para disolver las drogas, ¿se utilizan los solventes recomendados por las guías regionales?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h.Si el solvente no es agua, ¿se utiliza solo una cantidad mínima del solvente suficiente para solubilizar la droga y luego se diluye a la concentración final del stock con agua destilada?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Las porciones de las soluciones stock de drogas descongeladas y no usadas, son descartadas (no vueltas a congelar)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

j. ¿Verifica la temperatura del medio Middelbrook 7H10 al tiempo de incorporar el enriquecimiento y cada una de las drogas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
k. Realiza controles de esterilidad del medio (considerar adecuado si luego de la coagulación, una muestra de tubos es incubada a 35-37ºC durante 24 hs y luego a temperatura ambiente durante 48hs)	SI ☐ cada vez que se realiza un nuevo lote ☐ Nunca ☐ Comentarios ☐
l. Registra el tiempo de empleo del medio a partir de la fecha de preparación (considerar adecuado si se emplea hasta 1 mes después de su preparación)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. Conserva los medios elaborados en el lugar adecuado (considerar colocarlos en la heladera limpia y frecuentemente desinfectada, dentro de cajas plásticas con la tapa de cada uno de los tubos herméticamente cerrada. La caja se puede proteger mediante una bolsa de nylon si los medios tienen tapón de algodón para evitar la desecación. No introducir cajas de cartón por la posibilidad de formación de hongos).	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
J. Auditoria de prácticas	
J.2 Procedimiento de la prueba de sensibilidad por el método de proporciones en medio Löwenstein Jensen o 7H10 Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo del método que esté empleando. Observar el proceso	
a. ¿Se realiza la prueba de sensibilidad a las drogas que se indican en el algoritmo de trabajo del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. ¿Se realizan las pruebas de sensibilidad a partir de muestras baciloscopías positivas 2(+) o 3(+)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se utiliza el procedimiento de cultivo establecido normativamente para cada tipo de muestra si se realiza la prueba a partir de muestras baciloscopías positivas? (Esputo, LBA, LB, LCR o biopsias)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Se genera un inóculo homogéneo sin la presencia de grumos? (dejando la suspensión en reposo antes de su inoculación para asegurar que los grumos decanten en el fondo del tubo)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Se utiliza el patrón de turbidez recomendado por cada metodología para tener colonias representativas para inferir la resistencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Se utilizan las diluciones de la suspensión madre a utilizar indicadas por normativa para cada metodología según se parta de muestras o aislamientos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Se realizan las diluciones de las suspensiones bacilaresmezclando las mismas con el tubo cerrado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se realiza la prueba para cada muestra y/o aislamiento utilizando al menos dos diluciones con los medios con drogas y tres para los controles sin drogas según el método utilizado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Se realiza la siembra de cada dilución que corresponda con distintas pipetas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. ¿Se realizan los controles de absorción y o contaminación a las 48 hs de sembrada las pruebas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
k. ¿Cuándo se realiza la revisión de las pruebas para detectar resistencia?	Para medios en LJ a los 20 días ☐ 40 días ☐ Comentarios ☐ 7H10 a los 7 a 10 días ☐ 21 días ☐ Comentarios ☐
l. ¿Se cuantifica y registra el número de colonias desarrolladas en cada tubo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. ¿Se verifica que haya desarrollado más de 100 colonias en el tubo de medio sin droga con la dilución más concentrada?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
n. ¿Se utiliza la proporción crítica para definir resistencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

o. ¿Se realizan y registran los controles de calidad internos para las drogas ensayadas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
p. ¿Se informa la prueba de sensibilidad teniendo la identificación a nivel de CMTB?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
q. ¿Qué resultados se informan en la primera lectura?	Resistentes ☐ Sensibles ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
J. Auditoria de prácticas	
J.3 Procedimiento de la prueba de sensibilidad por el método de proporciones en medio MGIT Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo del método que esté empleando. Observar el proceso	
a. ¿Se realiza la prueba de sensibilidad a las drogas que se indican en el algoritmo de trabajo del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se guardan las drogas reconstituidas a -20°C o menos por hasta 6 meses, ¿o hasta la fecha de caducidad de las drogas (si fuera antes de los 6 meses)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. Para las drogas que no están incluidas en el equipo comercial, ¿se utilizan las concentraciones criticas recomendadas por OMS?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d.Para disolver las drogas que no están incluidas en el equipo comercial, ¿se utilizan los solventes recomendados por las guías regionales?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Si el solvente no es agua, ¿se utiliza solo una cantidad mínima del solvente suficiente para solubilizar la droga y luego se diluye a la concentración final del stock con agua destilada?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

e. ¿Las porciones de las soluciones stock de drogas descongeladas y no usadas, son descartadas (no vueltas a congelar)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. Para la preparación del inoculo, ¿se siguen las recomendaciones de las guías regionales, según se utilicen aislamientos en medios líquidos o sólidos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Se genera un inóculo homogéneo sin la presencia de grumos (dejando la suspensión en reposo antes de su inoculación para asegurar que los grumos decanten en el fondo del tubo)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se utiliza el patrón de turbidez recomendado para esta metodología para tener colonias representativas para inferir la resistencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Se realizan las diluciones mezclando las mismas con el tubo cerrado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. ¿Se realiza la prueba para cada aislamiento utilizando la dilución correspondiente del inóculo para los medios con drogas y cien veces más diluida para el control de crecimiento (para todas las drogas a excepción de la pirazinamida en la que el inoculo es diez veces más diluido que el empleado para los medios con droga)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
k. Cuando se detecta resistencia a pirazinamida en un paciente por primera vez, ¿se repite la prueba cuando un inóculo de menor densidad para asegurar que no se trata de un resultado falso resistente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
l. ¿Se realiza la siembra de cada dilución que corresponda con distintas pipetas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. ¿Se controlan diariamente los resultados que emite el equipo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
n. ¿Se realizan los controles de verificación de resistencia o sensibilidad revisando la presencia o no de grumos característica de *M. tuberculosis*?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
o. ¿Se efectúan los controles microscópicos (mediante la realización extendidos del caldo de los tubos dudosos, coloreados por ZN) en caso de duda que se trate de una contaminación?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
p. ¿Se corroboran las curvas emitidas por el equipo con los datos visuales?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

q. ¿Se guardan las curvas emitidas por el equipo y/o se registran los resultados en una planilla de Excel?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
r. ¿Se siguen las recomendaciones de la guía técnica para interpretar los resultados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
s. ¿Se realizan y registran los controles de calidad internos para las drogas ensayadas siguiendo las indicaciones de las guías regionales? Estas guías recomiendan: - Mínimamente se debería controlar cada lote de medio MGIT puesto en uso, - Luego, si el lote es usado durante varios meses, al menos, debe realizarse un control mensual	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
t. ¿Se informa la prueba de sensibilidad teniendo la identificación a nivel de CMTB?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	
J. Auditoria de prácticas	
J.4 Procedimiento de la prueba de sensibilidad para la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida por el método rápido de Griess Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo del método que esté empleando. Observar el proceso	
a. ¿Se realiza la prueba de sensibilidad sólo a isoniacida y rifampicina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿Se realizan las pruebas de sensibilidad a partir de muestras baciloscopías positivas 2(+) o 3(+)?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se utiliza el procedimiento de cultivo establecido normativamente para cada tipo de muestra si se realiza la prueba a partir de muestras baciloscopías positivas? (Esputo, LBA, LB, LCR o biopsias)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

d. ¿Se genera un inóculo homogéneo sin la presencia de grumos?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿Se utiliza el patrón de turbidez recomendado por la metodología para tener colonias representativas para inferir la resistencia?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. ¿Se utilizan las diluciones de la suspensión madre indicada por normativa para la metodología?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Se realizan las diluciones mezclando las mismas con el tubo cerrado?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se realiza la prueba para cada muestra y/o aislamiento utilizando al menos tres tubos para los controles y un tubo con los medios con drogas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. ¿Se realiza la siembra de cada dilución con la cantidad indicada en el procedimiento utilizando distintas pipetas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. ¿Cuándo se realiza el revelado de la prueba?	Primer revelado de control a los Método directo 14 días ☐ otro ☐ Método indirecto 7 días ☐ otro ☐ Segundo revelado de control a los Método directo 21 días ☐ otro ☐ Método indirecto 10 días ☐ otro ☐ Tercer revelado de control a los Método directo 28 días ☐ otro ☐ Método indirecto 14 días ☐ otro ☐ Comentarios ☐
k. ¿Se compara el color entre el control y el tubo con droga?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
l. ¿Se realizan y registran los controles de calidad internos para las drogas ensayadas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. ¿Se informa la prueba de sensibilidad teniendo la identificación a nivel de CMTB?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

J. Auditoria de prácticas		
J.5 Procedimiento de la prueba de sensibilidad para la detección de resistencia a pirazinamida por el método rápido de Wayne Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo del método que esté empleando. Observar el proceso		
a. ¿Se realiza la prueba de sensibilidad a los aislamientos que se indican en el algoritmo de trabajo del laboratorio?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
b. ¿Se realiza la prueba de sensibilidad a partir de aislamientos en medio sólido de hasta 1 mes de desarrollo?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
c. ¿Se realiza la incubación de 7 días antes de revelar la prueba?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
d. ¿Se deja 4 horas antes de hacer la lectura de la reacción?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
e. ¿Se realizan y registran los controles de calidad internos para las drogas ensayadas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
f. ¿Se espera la identificación a nivel CMTB antes de informar la prueba de sensibilidad?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
g. ¿Se informan resultados resistentes a pirazinamida cuando el aislamiento resultó sensible a isoniacida y rifampicina?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
h. Si se responde SI en la pregunta g por epidemiología se sospecha *M. bovis* y/o *M. bovisBCG*, ¿Se identifica a nivel especie dentro del complejo antes de informar?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐	
Comentarios		

J. Auditoria de prácticas
J.6 Procedimiento del ensayo con sonda en línea para la prueba de sensibilidad a inyectables y quinolonas (LIPA) Pedirle, si es posible, al técnico que realice el procesamiento completo de la prueba. Observar el proceso

a. ¿Se realiza la extracción del ADN a partir de aislamientos por calentamiento a 100°C?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. ¿La temperatura del baño o twincubator es la establecida en el inserto?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. ¿Se espera que los buffers de hibridación y lavado estén a la temperaturarecomendada por el fabricante y se homogeneizanantes de su uso? (se considera adecuado con los buffers de hibridación y de lavado profundo (buffer STR) fueron precalentados a 37°C-45°C, mientras que el resto de las soluciones alcanzaron la temperatura ambiente antes de su uso)	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. ¿Es cuidadoso dispensando el buffer de hibridación precalentado para evitar salpicaduras a las canaletas vecinas?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. ¿La lectura de las tiras se realiza cuidadosamente por los técnicos y/o profesionales?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. Los resultados ¿se analizan evaluando los datos clínicos y epidemiológicos del paciente antes de informar?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. ¿Se analizan los resultados no válidos e indeterminados para tratar de descifrar el inconveniente?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. ¿Se repiten los resultados no válidos o indeterminados?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. El informe se realiza según las normas.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

K. Seguridad en el laboratorio **Exigibles para pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de primera y segunda línea** Obviar si se completó en el Anexo A.1 o A.2	
K.1 Prácticas de seguridad	
a. *Manual de bioseguridad del laboratorio	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. *Empleo de desinfectantes recomendados para tuberculosis (fenol al 5%, hipoclorito de sodio al 1%, alcohol al 70%).	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *Limpieza de al menos una vez antes de comenzar y al finalizar cada día de trabajo.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. *Utilización de guantes de acuerdo a las normas de trabajo de bioseguridad general de los laboratorios.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
e. *Utilización de respiradores (tipo N95 o FFP2).	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
f. *Utilización de respiradores (tipo N95 o FFP2), cuando no se empleen en la rutina de trabajo, para su uso en caso de derrames.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
g. *Planilla de disponibilidad y uso de los elementos de protección personal para cada agente.	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
h. *Desecho de residuos patológicos y todos los elementos utilizados para las distintas metodologías por métodos recomendados (autoclavado o tratamiento con hipoclorito de sodio antes de su disposición con el resto de los residuos patológicos de la institución o, descarte de soluciones en envases especiales para residuos líquidos). El material trasladado para autoclavado debe transportarse en contenedores seguros.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
i. *Descarte y transporte del material (potencialmente infeccioso) en contenedores seguros que resistan el autoclavado y autoclavado del material contaminado diariamente durante 1 hora a 121ºC.	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
j. *Indicadores químicos para esterilización por calor (autoclavado)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Frecuencia de uso: .....
k. *Indicadores bilógicos para estilización por calor (autoclavado)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐ Frecuencia de uso: .....
l. *Kit en caso de derrames que contenga: una bolsa autoclavable, guantes, batas, desinfectantes apropiados, respiradores N95 o FFP2, algodón y papel adsorbente, jabón, palita para recoger residuos, contenedor para cortopunzantes, cartel de NO INGRESAR)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
m. *Norma escrita para el manejo de desechos de peligro biológico y desechos químicos regulados	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐

K.2 Seguridad del personal	
a. *Programa regular anual de control médico para los trabajadores de salud, siguiendo la normativa laboral vigente en el país (Si no hubiera política adoptada, el supervisor debe asegurar que el personal de laboratorio tenga como mínimo una evaluación médica anual que puede incluir examen radiológico de tórax).	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
b. *Conoce y tiene disponible instrucciones escritas para accidentes o incidentes (puede estar incluido en el manual/POE de Bioseguridad del laboratorio)	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *Programa de entrenamiento de seguridad / bioseguridad inicial con registros de participación del personal del laboratorio.	Disponible: Si ☐ NO ☐ Comentarios ☐
Comentarios	

L. Derivación de muestras y/o aislamientos	
L.1 Exigibles para pruebas de sensibilidad de drogas antituberculosis de primera y segunda línea Dependiendo del algoritmo diagnóstico establecido en cada país, un mismo paciente podría ser estudiado por una o más de estas técnicas Obviar si se completó el Anexo A.1 o A.2	
a. *¿Se derivan para identificación de CMTB o prueba de sensibilidad todas las muestras indicadas por las normas? Los siguientes aislamientos se consideran adecuados para su derivación - cultivos positivos con características culturales compatibles con MTB o ya identificado como CMTB de pacientes con: • historia de tratamiento previo (recaídas, fracasos, perdida en seguimiento) •antecedentes de contactos con pacientes con TB multirresistente o extensamente resistente • baciloscopía positiva al finalizar el segundo mes de tratamiento o en un control posterior • casos diagnosticados con baciloscopía negativa y que convierten a positiva su baciloscopía durante el tratamiento •inmunosupresión particularmente VIH positivos y diabéticos •con exposición a infección por bacilos resistentes a las drogas (internados o trabajadores de instituciones de salud o de prisiones donde se registran casos con tuberculosis resistente) • residencia anterior en países con alto nivel de resistencia a drogas (Ecuador, Perú, algunos países asiáticos y de Europa del Este). •adicción al alcohol y/o a otras drogas •edad menor a 15 años (niños) •intolerancia a drogas	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐

b. ¿Se derivan muestras al LNR cuando se identifica una muestra con un resultadoque indica monoresistencia a rifampicina o isoniacida o multirresistencia, para confirmar la identificación y la/s resistencia/s y realizar pruebas de sensibilidad al resto de las drogas de primera y segunda línea?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
c. *¿Existe un sistema de transporte regular para el traslado de los aislamientos al laboratorio que realiza identificación y pruebas de sensibilidad?	SI ☐ NO ☐ Comentarios ☐
d. *Laboratorio al que se derivan muestras para identificación y/o pruebas de sensibilidad	.....
e. ¿Cuál es el tiempo promedio que demoran en recibir resultados de los estudios derivados?	Cultivo e identificación ..... días Xpert MTB/RIF ..... días Lipas: ..... días Prueba de sensibilidad (métodos fenotípicos) a Rifampicina .....días a Isoniacida .....días a drogas de segunda línea .....días
Comentarios	

M. Otras observaciones

El personal del laboratorio manifestó las siguientes inquietudes en relación a su laboratorio de referencia.....
.....
.....
.....

Conclusiones

Se destacan las siguientes fortalezas .....
.....
.....
.....
.....

Se destacan los siguientes desafíos o medidas correctivas a implementar prioritariamente por las autoridades .....
.....
.....
.....

por el personal de laboratorio.....
.....
.....
.....

Se identificaron las siguientes necesidades de entrenamiento.....
.....
.....
.....

Acuerdos alcanzados en relación a los desafíos .....
.....
.....

Nombre y firma del supervisor/es: .....

Nombre y firma del responsable del laboratorio: .....

Fecha: ..... /...../.....

ANEXO B - BACILOSCOPIA SUPERVISIÓN PERIFERIA-CENTRO

Anexo B.1. Ejemplo de Registro utilizado para documentar el cronograma de laboratorios a supervisar durante un semestre.

Este registro puede utilizarse cuando el muestreo de las láminas a releer se realiza sólo sobre un período determinado del año (por ej. un mes). En este ejemplo se muestra un cronograma con los laboratorios de la red a supervisar de enero a junio; de este modo, el laboratorio supervisor a finales de cada mes podrá identificar los laboratorios a los que debe solicitar las láminas correspondientes a dicho período para su relectura. Los laboratorios que van a ser evaluados no deben conocer de antemano en qué meses serán supervisados. En este ejemplo, el mismo registro ha sido empleado, además, para anotar la fecha de solicitud de las láminas al servicio a supervisar, la recepción del acuse de recibo (en caso que el aviso haya sido dado por correo electrónico, por ej.) por parte del laboratorio a supervisar y la fecha de recepción de las láminas en el laboratorio supervisor.

Cronograma de laboratorios a supervisar - Semestre = 1 Año = 2017				
Mes	Recibo	Fecha de solicitud	Acuse de recibo de la solicitud (Si/No)	Fecha de recepción de las BK
Enero	Laboratorio A	31/01/2017	Si	25/02/2017
	Laboratorio B	31/01/2017	Si	21/02/2017
	Laboratorio C	31/01/2017	Si	03/03/2017
Febrero	Laboratorio D	26/02/2017	No	
	Laboratorio E	28/02/2017	Si	22/02/2017
	Laboratorio F	28/02/2017	Si	04/03/2017
Marzo	Laboratorio G	30/03/2017	Si	28/04/2017
	Laboratorio H	30/03/2017	Si	16/04/2017
	Laboratorio I	30/03/2017	Si	05/04/2017
Abril	Laboratorio J	30/04/2017	Si	03/06/2017
	Laboratorio K	30/04/2017	Si	03/06/2017
	Laboratorio L	30/04/2017	Si	05/06/2017
Mayo	Laboratorio M	29/05/2017	Si	25/06/2017
	Laboratorio N	29/05/2017	Si	21/06/2017
	Laboratorio Ñ	29/05/2017	Si	04/05/2017
Junio	Laboratorio O	02/07/2018	Si	25/07/2017
	Laboratorio P	02/07/2018	Si	21/07/2017
	Laboratorio Q	02/07/2018	Si	03/08/2017

Formularios sugeridos para la EEC de la baciloscopia mediante el método de relectura

Los siguientes cinco instrumentos, correspondientes a los anexos B.2 a B.6, están diseñados para guiar al laboratorio supervisor en las siguientes actividades:

Estos instrumentos pueden estar disponibles en formato papel, pero es recomendable, como se dijo anteriormente, que puedan ser incluidos en forma electrónica.
Debido a las características autoexplicativas de estos formularios, los mismos no cuentan con instrucciones adicionales para completarlos; sólo se ha colocado una descripción de su utilización en el contexto del "Procedimiento global de EEC mediante el método de relectura de láminas", así como algunas notas al pie para definir las abreviaturas que aparecen en los mismos.

Anexo	**Actividades**
B.2	Listar los extendidos de la muestra que van a ser releídos y los resultados de la relectura de láminas por los supervisores
B.3	Listar los extendidos con resultados discordantes entre el laboratorio supervisado y el primer supervisor, a fin que sean leídos por el segundo supervisor
B.4	Consolidar los resultados de la relectura de todos los laboratorios controlados en una determinada área y los del supervisor correspondiente a esos laboratorios con el propósito de evaluar el desempeño de los supervisores
B.5	Reportar anualmente la carga de trabajo y el desempeño de cada uno de los laboratorios que fueron supervisados
B.6	Consolidar los resultados globales anuales del desempeño de todos los laboratorios de un área

Anexo B.2.Resultados de la relectura de láminas por los supervisores

Este formulario es utilizado por el coordinador local para listar los números de los extendidos que serán releídos (sin los resultados del laboratorio a supervisar) y será entregado al primer supervisor junto con los extendidos. Al recibir la copia con los resultados del primer supervisor, el coordinador completará la columna de resultados del laboratorio supervisado e identificará las láminas con resultados discordantes, que serán listadas en el Formulario que se muestra en el Anexo B.3 "Lista de discordancias", para que sean releídas por el segundo supervisor. Luego de la lectura del segundo supervisor, el coordinador local completará las tablas ubicadas en la parte inferior del formulario con los números y tipos de errores cometidos por el laboratorio supervisado y el primer supervisor y las recomendaciones relativas a los hallazgos identificados (errores, calidad de la muestra, extendido y coloración).

Evaluación externa por relectura de láminas

Anexo B.2: Resultado de la relectura de láminas por los supervisores

Laboratorio supervisado _____ Primer supervisor: _____

Técnico/s local/es: _____ Laboratorio: _____

Fecha: _____ Segundo supervisor: _____

Período evaluado: _____ Laboratorio: _____

Lab. Supervisado		Resultado		Calidad de la muestra	Calidad del extendido	Calidad de la coloración	Comentario
Nº de extendido	Resultado	Primer supervisor	segundo supervisor				

Laboratorio supervisado					
Total de resultados informados en la muestra					
Positivo: _____	**Contables: _____**		**Negativo: _____**		
Resumen de los errores identificados					
FPA	**FPB**		**FNA**	**FNB**	**EC**

FPA = Falso Positivo Alto; FNA = Falso Negativo Alto; FPB = Falso Positivo Bajo; FNB = Falso Negativo Bajo; EC: Error

Primer Supervisor					
Total de resultados informados en la muestra					
Positivo: _____	**Contables: _____**		**Negativo: _____**		
Resumen de los errores identificados					
FPA	**FPB**		**FNA**	**FNB**	**EC**

Resumen de calidad de muestras, extendidos y coloración
Muestras de esputo con calidad adecuada: .....%
Extendidos buenos:.....%
Coloración buena: .....%

Observaciones y Recomendaciones:

Anexo B.3. Lista de discordancias

Este formulario es utilizado por el coordinador para listar los extendidos con resultados discordantes entre el laboratorio supervisado y del primer supervisor, junto con ambos resultados. Puede ser empleado para colocar las discordancias de varios laboratorios, ya que el laboratorio cuyas láminas presentan resultados discordantes puede ser identificado en el mismo formulario. Para asegurarse que el segundo supervisor no conozca a quien corresponde cada resultado (laboratorio o supervisor), se recomienda colocar alternativamente los resultados del supervisor y el laboratorio en las columnas cuyos encabezados son "Resultados 1 y 2". Por ejemplo, colocar los resultados del laboratorio de un grupo de láminas en la columna de "Resultados 1", y en la columna de "Resultados 2", los del supervisor, mientras que, para otro grupo de láminas, colocar en la columna de "Resultados 1", los resultados del supervisor y en la columna de "Resultados 2" introducir los del laboratorio supervisado.

Evaluación externa por relectura de láminas

Anexo B.3: Lista de discordancias

Provincia / Área ..... Primer **supervisor:** .....

Segundo supervisor: .....

Fecha: ..... Período de recolección de la muestra .....

Lab Supervisado	**Nº de Ext.**	Resultado 1	Resultado 2	**Segundo Supervisor**	
				Resultado	Observaciones

Anexo B.4. Informe consolidado del desempeño del primer supervisor

Es utilizado por el coordinador para condensar los resultados de la relectura de todos los laboratorios supervisados en un área específica y del primer supervisor que realizó las relecturas. Se usa como apoyo para evaluar las competencias del supervisor. Sólo se colocan resultados consolidados de los laboratorios, no listas de extendidos. La información que debe ser incluida en este formulario es:

Lista con los nombres de todos los laboratorios supervisados

Para cada laboratorio supervisado: total de láminas positivas, contables y negativas informadas por cada laboratorio en la muestra de extendidos releída y total de errores identificados (del Formulario del Anexo B.2).

Nombre del primer supervisor, segundo supervisor y coordinador

Resumen del total de láminas positivas, contables y negativas reportadas por el primer supervisor para cada laboratorio evaluado y errores cometidos por el primer supervisor (del Formulario del Anexo B.2).

Totales de cada columna calculados en la parte inferior del formulario.

Evaluación externa por relectura de láminas

Anexo B.4: Informe consolidado del desempeño del primer supervisor

Area/Provincia

Período:

Primer supervisor
Segundo supervisor:
Coordinador

	Evaluación de los laboratorios								Evaluación del primer supervisor							
	Resultados informados en las láminas releidas (N°)(*)			Errores detectados en la EEC (N°) (**)					Resultados informados en las láminas releidas (N°)(***)			Errores detectados en la EEC (N°) (****)				
Nombre de los laboratorios controlados	Pos.	Contables	Neg.	FPA (N°)	FNA (N°)	FPB (N°)	FNB (N°)	EC	Pos.	Contables	Neg.	FPA(N°)	FNA (N°)	FPB (N°)	FNB (N°)	EC
Totales																

Fecha _____
Firma _____

(*) Complete con los números de resultados positivos, contables y negativos registrados por el Laboratorio evaluado en los extendidos releidos (Tabla resumen "Laboratorio supervisado" Anexo B.2)

(**) Complete el número de errores encontrados en el laboratorio supervisado después que las discordancias fueron leidas por el segundo supervisor (FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación) (Tabla resumen "Laboratoriosupervisado" Anexo B.2)

(***) Complete con los números de resultados positivos, contables y negativos registrados por el primer supervisor en los extendidos releidos (Tabla resumen "Primer supervisor" Anexo B.2)

(****) Complete el número de errores encontrados para el primer supervisor después que las discordancias fueron leidas por el segundo supervisor (Tabla resumen "Primer supervisor" Anexo B.2)

Anexo B.5. Desempeño de los laboratorios de baciloscopía

Este instrumento se usa para reportar anualmente la carga de trabajo y el desempeño de cada uno de los laboratorios que fueron supervisados. Incluye un listado de cada laboratorio, la carga de trabajo y positividad, el tamaño y positividad de la muestra de extendidos releídos y los errores identificados en dicha muestra, por tipo de error.

Evaluación externa por relectura de láminas

Anexo B.5: Desempeño de los laboratorios de baciloscopía

ANÁLISIS ANUAL

Año ..... Laboratorio Supervisor .....

N	Nombre de los laboratorios controlados	Extendidos procesados durante el año (Nº)			Extendidos releídos (Nº)			Errores identificados en la muestra de láminas releídas				
		Pos	Contables	Neg-	Pos	Contables	Neg-	FPA (Nº)	FNA (Nº)	FPB (Nº)	FNB (Nº)	EC
1	0											
2	0											
3	0											
4	0											
5	0											
6	0											
7	0											
8	0											
9	0											
10	0											
11	0											
12	0											
13	0											
14	0											
15	0											
	0											
	0											
	Total											

FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación

Anexo B.6. Resumen de los resultados de relectura

Este instrumento se usa para consolidar los resultados globales anuales del desempeño de los laboratorios de un área. El informe incluye indicadores cobertura del programa de EEC por relectura, carga de trabajo y positividad de los laboratorios participantes, tamaño de la muestra releída y positividad, porcentajes de errores (por tipo de error) y N° de laboratorios con más de un error mayor (por tipo de error). Utilizando la información recopilada en los informes realizados en años anteriores, es posible realizar una tendencia de los indicadores de cobertura y desempeño global de los laboratorios, a fin de poder identificar si las actividades correctivas aplicadas han sido efectivas para mantener y/o mejorar la calidad de los servicios.

Evaluación externa por calidad de relectura

Anexo B.6: Resumen de resultado de relectura

Año:

Número de laboratorios de la red	
Número de laboratorios evaluados por relectura	
Porcentaje de positividad promedio en los laboratorios participantes	
Número de extendidos positivos releídos	
Número de extendidos negativos releídos	
Porcentaje de promedio FPA	
Porcentaje de promedio FNA	
Número (%) de laboratorios con más de un FPA	
Número (%) de laboratorios con más de un FNA	

FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto

Anexo B.7. Guía de acciones a realizar durante la visita técnica para investigar las causas de los errores detectados por el método de relectura de láminas (Tabla traducida y adaptada del Documento "External quality assessment for AFB Smear microscopy". Washington, DC: APHL; 2002).

Errores	**Posibles causas**	**Investigaciones/acciones a realizar durante la visita técnica**
Un sólo FPA	1. Error administrativo 2. Las mismas causas que cuando se encuentra regular cantidad de FPA (ver debajo)	1. Comparar el registro de laboratorio con la lista remitida para la relectura de láminas. ¿Resultado correcto o incorrecto? 2. Excluir otras causas descriptas para el hallazgo de varios FPA
Escasos FPB	Limitación de la técnica de EEC por relectura	Ignorar si ocurren en número comparable a los obtenidos por los supervisores.
Algunos FPA con o sin FPB	1. Problemas con la coloración. ¿Hay artefactos? ¿Se decoloraron los BAAR antes de la relectura? ¿No se recolorea antes de realizar la EEC por relectura? 2. Problemas con el microscopio 3. El técnico no puede reconocer los BAAR 4. Problemas con el registro de laboratorio	1. Chequear los colorantes y el procedimiento de coloración. Recolorear y examinar los resultados FPA, ¿Son positivos? 2. Examinar un extendido con escasos bacilos en el microscopio del servicio 2. Releer varios extendidos con escasos bacilos para analizar la habilidad del técnico de reconocer los bacilos 4. Comparar el registro de laboratorio con la lista remitida para la relectura de láminas. ¿Resultados correctos o incorrectos?
Único FNA (2–3+)	1. Error administrativo como para el caso de un único FPA	1. Comparar el registro de laboratorio con la lista remitida para la relectura de láminas. ¿Resultado correcto o incorrecto?
Más de un FNA y/o varios FNB **Cuantificación más baja que el LR**	1. Mala calidad de los colorantes/ inadecuada técnica de coloración 2. Inadecuada preparación del extendido 3. Problemas con el microscopio 4. Microscopía poco rigurosa	1. Evaluar si los extendidos positivos recién coloreados en el laboratorio se observan de color rojo intenso. Observar el procedimiento de coloración: ¿suficiente tiempo, calentamiento? ¿Tiempo con el colorante de contraste adecuado? 1. Colorear extendidos positivos con soluciones de coloración preparadas en el LR. 2. Revisar el grosor de los extendidos. ¿Se observan de color azul intenso? 3. Utilizar el mismo microscopio del servicio para observar extendidos que se sabe son positivos. ¿Intensidad de la luz adecuada? ¿Imagen clara? 4. Excluir otras causas.
EC graves	1. Colorantes/coloración pobre 2. Problemas con el microscopio	1. Las mencionadas en el apartado de arriba 2. Las mencionadas en el apartado de arriba

Anexo B.8. Ejemplos de informes de relectura de láminas

Ejemplo 1

Informe de la Evaluación externa de calidad de baciloscopias por relectura de láminas

Laboratorio: Hospital A
Fecha: 20-8-16
Período evaluado: Junio (enero –junio 2016)
Provincia: Ficticia

Primer supervisor: N. A
Laboratorio: regional
Segundo Supervisor: F. A
Laboratorio: regional

Laboratorio		Resultado		Muestra	Extendido	Coloración
N°	Resultado	Primer supervisor	Segundo supervisor			
8022	Neg(-)	Pos(8 BAAR)	Pos (5 BAAR)	Mucopurulenta	Bueno	Buena
8024	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8026	Pos (++)	Pos (+++)		Mucopurulenta	No homog.	Buena (falta decolorar)
8028	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8030	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog.	Buena (falta decolorar)
8032	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8034	Neg(-)	Pos(6 BAAR)	Pos (6 BAAR)	Mucosa	Bueno	Buena
8036	Neg(-)	Neg(-)		Saliva	Fino	Buena
8038	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Grueso	Buena (falta decolorar)
8040	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8042	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa -	Grueso	Buena (falta decolorar)
8044	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Grueso	Bueno (falta decolorar)
8046	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8048	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8050	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Grueso	Buena (falta decolorar)
8052	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8054	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8056	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog	Buena (falta decolorar)
8058	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	No homog.	Buena (falta decolorar)

8060	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog.	Buena (falta decolorar)
8062	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Grueso	Buena
8064	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Grueso	Buena (falta decolorar)
8066	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
8068	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Grueso	Buena (falta decolorar)
8070	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8072	Neg(-)	Neg (-)		Mucosa	No homog	Buena (falta decolorar)
8074	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8076	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	No homog	Buena (falta decolorar)
8078	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8080	Neg(-)	Neg (-)		Saliva	Bueno	Buena
8082	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog	Buena
8084	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Grueso	Buena
8086	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8088	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog	Buena (falta decolorar)
8090	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8092	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8094	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Grueso	Buena (falta decolorar)
8096	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8098	Pos (++)	Pos(+++)		Mucopurulenta	No homog	Buena (falta decolorar)
8100	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	No homog	Buena (falta decolorar)
8102	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	No homog	Buena (falta decolorar)
8104	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
8108	Pos (++)	Pos (+++)		Saliva	Fino	Buena
8110	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
8112	Neg(-)	Pos (5 BAAR)	Pos(9 BAAR)	Saliva	Fino	Buena

8114	Neg(-)	Pos (7 BAAR)	Pos(5 BAAR)	Mucosa	Bueno	Buena
8118	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa -	No homog	Buena (falta decolorar)
8120	Neg(-)	Pos(+)	Pos (+)	Mucopurulenta	Bueno	Buena

Total de resultados informados en la muestra		
Positivo: _____3_	Contables: _____0_	Negativo: ___45_____

Resumen de los errores identificados									
FPA	0	FPB	0	FNA	1	FNB	4	EC	0

FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación

Resumen de calidad de muestras, extendidos y coloración

Muestras de esputo con calidad adecuada: 92%
Extendidos buenos: 50%
Coloración buena y buena con objeciones: 100%

Observaciones y recomendaciones

1. Calidad de las muestras: buena. La mayoría (92%) de las muestras han sido calificadas como mucosas o mucopurulentas, hecho que indicaría que las instrucciones al paciente para la toma de muestra se dan en forma apropiada y que en el laboratorio se escoge la partícula adecuada para la realización del extendido.

2. Calidad de los extendidos: existe una tendencia a realizar extendidos gruesos y poco homogéneos. Los campos con demasiada cantidad de muestra, pueden generar una coloración de contraste intensa que puede ocultar los BAAR, ocasionando resultados falsos negativos. Por otro lado, en los extendidos gruesos, parte del material puede desprenderse durante el proceso de coloración, ocasionando posibles resultados falsos negativos. Se recomienda revisar el procedimiento de preparación de extendidos. Remitirse al manual de normas técnicas http://www1.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-baciloscopia.pdf

3. Calidad de las coloraciones:se observa una alta proporción de extendidos con decoloración insuficiente, hecho que está asociado a la preparación de extendidos

gruesos o no homogéneos. Adicionalmente la falta de decoloración puede estar ocasionada por la desecación de la solución de fucsina sobre los extendidos, o debido a una concentración de ácido en la solución decolorante menor a la normada y a un tiempo de exposición del decolorante sobre el extendido inadecuado. La presencia de coloración de fondo puede ocasionar confusión en la observación de BAAR y dar origen a resultados falsos positivos y negativos.

4. Calidad de las lecturas: se identificaron cuatro FNB y un FNA. Adicionalmente se observa una tendencia a lecturas semicuantitativas más bajas que las del Laboratorio de Referencia. Estos hallazgos podrían estar asociados a la lectura de menor cantidad de campos que los normados o sin la utilización de micrómetro para la lectura de todos los planos del extendido. Estos resultados también podrían deberse a las condiciones del microscopio en uso, en particular a la falta de intensidad lumínica adecuada para la observación de BAAR. Si bien en los extendidos con escasos bacilos, la reproducibilidad de la baciloscopia es cercana al 50%, el hecho de identificar cuatro errores FNB junto a un FNA, es una señal de alarma que debe ser evaluada. Se recomienda leer más detenidamente, utilizando el micrómetro y observando al menos 100 campos para declarar un extendido como negativo. Se coordinará una visita técnica al laboratorio.

Ejemplo 2

Informe de la Evaluación externa de calidad de baciloscopias por relectura de láminas

LaboratorIo: Hospital B
Fecha: 30-1-17
Período evaluado: noviembre (julio-diciembre 2016)
Provincia: Ficticia

Primer supervisor: N. B
Laboratorio: regional
Segundo Supervisor: F. B
Laboratorio: regional

Laboratorio		Resultado		Muestra	Extendido	Coloración
N°	Resultado	Primer supervisor	Segundo Supervisor			
809	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
811	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
813	Pos (+)	Neg(-)	Neg(.)	Saliva	Fino	Buena (cristales de fucsina
815	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
817	Pos(5 BAAR)	Neg(-)	Neg(-)	Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
819	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Bueno (falta decolorar
821	Neg(-)	Neg (-)		Mucosa	Bueno	Buena
823	Pos(6 BAAR)	Neg(-)	Neg(-)	Mucosa	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
825	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
827	Neg (-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
829	Pos (++)	Pos(++)		Mucosa	Bueno	Buena
831	Neg (-)	Neg (-)		Mucosa	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
833	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
835	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
837	Neg(-)	Neg(-)		Saliva	Fino	Buena
839	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
841	Pos(5 BAAR)	Neg(-)	Neg(-)	Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
843	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
845	Pos (++)	Pos (++)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (falta decolorar)

847	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
849	Neg (-)	Pos(6 BAAR)	Pos (+)	Mucosa	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
851	Neg(-)	Neg(-)		Saliva	Fino	Buena
853	Pos(7 BAAR)	Neg(-)	Neg(-)	Saliva	Fino	Buena (cristales de fucsina)
855	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
857	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
859	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
861	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
863	Pos(+++)	Pos (+++)		Mucopurulenta	Fino	Buena (cristales de fucsina)
865	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
867	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
869	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
871	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (falta decolorar)
873	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
875	Neg(-)	Neg(-)		Saliva	Fino	Buena
877	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
879	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
881	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
883	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
885	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
887	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)
891	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
893	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena
895	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (cristales de fucsina)

897	Neg(-)	Neg(-)		Mucopurulenta	Bueno	Buena (falta decolorar)
899	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
901	Neg(-)	Neg(-)		Mucosa	Bueno	Buena
903	Neg(-)	Neg(-)		Saliva	Fino	Buena (cristales de fucsina)

Total de resultados informados en la muestra					
Positivo: _____4_		Contables: _____4_		Negativo: ___40_____	
Resumen de los errores identificados					
FPA 1	FPB 4	FNA 0	FNB 1	EC 0	
FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación					
Resumen de calidad de muestras, extendidos y coloración Muestras de esputo con calidad adecuada: 87% Extendidos buenos: 98% Coloración buena y buena con objeciones: 100%					

Observaciones y recomendaciones

1. Calidad de las muestras: buena. La mayoría de las muestras han sido calificadas como mucosas o mucopurulentas (85%), hecho que indicaría que las instrucciones se dan al paciente en forma apropiada y que en el laboratorio se escoge la partícula adecuada para la realización del extendido.

2. Calidad de los extendidos: buena. La mayoría de los extendidos preparados a partir de muestras buenas tienen el grosor y tamaño adecuado.

3. Calidad de las coloraciones: se observa una alta proporción de extendidos con depósitos de fucsina. La presencia de estos artefactos dificulta la observación de los BAAR pudiendo ocasionar falsos resultados negativos. Por otro lado, estos depósitos de colorantes pueden ser confundidos con bacilos ocasionando falsos resultados positivos. Se recomienda revisar la concentración de fucsina en la preparación del colorante y filtrar una porción de la solución de fucsina antes de cada jornada de trabajo o dispensar la fucsina sobre un

embudo con papel de filtro encima de cada uno de los extendidos. Revisar los resultados anotados en los registros de los controles de calidad interno de colorantes y coloración.

4. Calidad de las lecturas: se encontraron seis discordancias. Un falso negativo bajo y cinco falsos positivos, uno de ellos falso positivo alto. Todos los errores falsos positivos fueron identificados en extendidos en cuyas coloraciones se encontraron depósitos de fucsina, enfatizando la importancia de corregir este problema en la coloración. Adicionalmente, la confusión de BAAR con estos artefactos, podría deberse a las condiciones del microscopio en uso, en particular la nitidez y la falta de intensidad lumínica adecuada para la observación de BAAR. Se coordinará una visita técnica al laboratorio.

Anexo B.9. Formulario de seguimiento de la calidad de baciloscopias

Se utiliza para realizar un seguimiento anual del desempeño de cada uno de los laboratorios de microscopía que son supervisados regularmente por cada laboratorio supervisor. A partir de los datos incorporados al Formulario del Anexo B.2, se recopila información relativa al desempeño anual de cada laboratorio con el fin de evaluar temporalmente la ocurrencia de errores sistemáticos y los avances logrados.

Evaluación externa por relectura de láminas

Anexo B.9: Formulario de seguimiento de la calidad de las baciloscopias

Nombre del Servicio:.....

Localidad:.....

Provincia, área, región:.....

Año	N° de extendidos evaluados	Pos. (N°)	Contables (N°)	% Muestras Buenas	% Extendidos Buenos	% Coloración Buena	FPA (N°)	FPB (N°)	FNA (N°)	FNB (N°)	Comentarios

FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación

Anexo B.10. Ejemplo de Formulario de seguimiento de calidad de baciloscopias

Formulario de seguimiento de la calidad de las baciloscopías

Nombre del servicio: Hospital A
Localidad: Ficticia
Province, area, region: Ficticia

Año	N° de extendidos evaluados	Pos. (N°)	Contables (N°)	% Muestras Buenas	% Extendidos Buenos	% Coloración Buena	FPA (N°)	FPB (N°)	FNA (N°)	FNB (N°)	Comentario
2015	96	9	7	80	95	95	1	5	0	1	Presencia de cristales de fucsina en una proporción importante de los extendidos. Posible causa de los FP . Visita técnica planificada
2016	96	8	2	75	96	96	0	1	0	0	
2017	96	9	3	78	93	98	0	0	0	1	

ANEXO C -- BACILOSCOPIA SUPERVISIÓN CENTRO-PERIFERIA

Registros, formularios y procedimiento de preparación de lotes y paneles de láminas para la realización de las pruebas de aptitud.

Los siguientes anexos incluyen un procedimiento para preparar lotes y paneles de láminas y varios registros y formularios para recoger información sobre la calidad de las láminas y el resultado de las pruebas.

Los instrumentos presentados en los anexos C.2 a C.7 han sido diseñados para guiar al Laboratorio de Referencia en la siguiente secuencia:

Anexo	Actividad
C.2	Producir la suspensión de stock de positivos que se empleará para la elaboración de lotes de láminas con distinto grado de positividad
C.3	Producir y validar una colección de láminas positivas y negativas para BAAR que servirán para preparar paneles
C.4	Producir paneles de extendidos, registrar los resultados esperados para cada lámina y anotar los resultados obtenidos por los microscopistas participantes de la prueba (Anexo
C.5	Enviar junto a los paneles de láminas un registro para anotar los resultados obtenidos por los laboratoristas de los servicios locales. Incluye el instructivo para la realización de la prueba
C.6	Realizar el informe de los resultados de la lectura de los paneles
C.7	Registrar en forma condensada los resultados obtenidos por los laboratorios participantes de la prueba en un área/región/departamento durante un período determinado

Anexo C.1. Procedimiento para la preparación de lotes y paneles de láminas para las pruebas de aptitud

Este procedimiento es un método autoexplicativo de producción de múltiples láminas a partir de muestra/s positiva/s y negativa/s para BAAR. El equipo de técnicos debe leer y entender el proceso y los protocolos antes de realizar los extendidos. Si se encuentra alguna dificultad en producir láminas que reúnan los requerimientos de consistencia deberán: 1) revisar los procesos, en especial los de calentamiento y homogeneización de las suspensiones; 2) seleccionar muestras menos mucosas (mucopurulentas). Antes de proceder al desarrollo

de paneles, el laboratorio debe demostrar eficiencia para producir lotes consistentes de un mínimo de 50-100 láminas especialmente de aquellas que corresponden a número contable de BAAR.

Materiales Requeridos:

- Baño de agua o incubadora de baño seco (bloque térmico) a 55-60°C
- Tubos plásticos con tapa a rosca de 50 ml
- Tubos plásticos con tapa a rosca de 15 ml
- Perlas de vidrio de 3 mm
- Formol (solución de Formaldehido 40%)
- Solución de NaOH al 4%
- Agua destilada
- Albumina bovina 2% en agua destilada
- Centrífuga de seguridad biológica con capacidad de alcanzar 3000 G
- Pipetas serológicas de 10 ml, 5 ml y 1 ml.
- Propipeta para las pipetas serológicas.
- Micropipeta de 20-200 µl y de 200-1000 µl.
- Puntas para las micropipetas de 20-200 µl y de 200-1000 µl.
- Micropipeta multidispensadora de un canal con capacidad de 50 µl o mayor que permita dispensar 30 µl.
- Puntas para la pipeta multidispensadora
- Marcador indeleble
- Marcador de vidrio
- Portaobjetos
- Agitador tipo Vortex
- Timer
- Plancha calefactora con capacidad de mantener la temperatura a 60ºC.

Nota: el procesamiento debe ser realizado en cabina de seguridad biológica en laboratorios con condiciones de bioseguridad adecuados.

El tratamiento que reciben las muestras para la preparación de suspensiones bacilares que darán origen a los lotes de láminas, provoca riesgo moderado de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras, por lo que todos los procedimientos deben realizarse en un laboratorio con infraestructura, equipamientos y prácticas correspondientes a un servicio de "riesgo moderado".

Muestra positiva

Si bien se prefieren muestras frescas de no más de 2 o 3 días desde su recolección, también pueden emplearse muestras conservadas por hasta una semana a 4°C y luego guardadas en freezer de –20ºC. El esputo debe tener las siguientes características:

- Volumen: 3 ml o más.
- Carga de bacilos: ≥2+ por ZN.
- Color: Blanco a verde claro. No utilizar muestras hemoptoicas.
- Consistencia: se prefieren muestras cuya consistencia no sea muy mucosa porque dificultan la producción de stock de positivos consistentes.

Muestra Negativa:

Es muy importante que sean frescas, de no más de 2 días desde su recolección, y las características que deben tener son:

- Volumen: 3-4 ml (si el volumen fuera inferior pueden juntarse varios esputos negativos de buena calidad para alcanzar este volumen).
- Color: blanco a verde claro.

- Se prefieren muestras negativas que tengan 20 leucocitos o más por campo ya que esta cantidad de células favorece que la apariencia de las láminas al final del procedimiento sea similar a la de un extendido preparado a partir de una muestra de esputo; los leucocitos deben tener morfología conservada, de lo contrario, se lisan durante el proceso.

Secuencia Operativa

Preparación del stock de positivos

Volumen de muestra: 3 ml

1. Si el volumen de muestra es mayor a 3 ml separar alícuotas de esa cantidad en tubos diferentes.

2. Colocar los 3 ml del esputo en tubo graduado de 15 ml. Agregar 5-10 perlas de vidrio de 3 mm y 50 µl de formol por cada ml de esputo positivo. Mezclar empleando un agitador tipo vortex.

3. Incubar durante una hora a temperatura ambiente, mezclando con el agitador tipo vortex cada 10 minutos con el objetivo de homogeneizar bien el material.

4. Agregar 1 ml de NaOH 4% (para esputos consistentes agregar hasta 2 ml de NaOH).

5. Agitar 4-5 minutos con un agitador tipo vortex.

6. Traspasar el contenido del tubo de 15 ml a un tubo de plástico con tapa a rosca de 50 ml usando pipeta (no traspasar las perlas de vidrio).

7. Agregar agua destilada hasta completar un volumen de 20 ml.

8. Incubar en baño maría o bloque térmico a 55-60ºC durante 30 minutos mezclando ocasionalmente por inversión (3 veces en los 30 minutos).

9. Agregar agua destilada hasta un volumen de 40 ml y mezclar por inversión.

10. Centrifugar a 3000 G durante 15 minutos a temperatura ambiente (si no contara con portatubos para tubos de 50 ml, puede distribuir los 40 ml contenidos en el tubo de 50 ml en 3 tubos de 15 ml antes de centrifugar).

11. Dejar reposar 5 minutos y decantar cuidadosamente el sobrenadante.

12. Agregar 0,5 a 1 ml de agua destilada y resuspender usando un agitador tipo vortex durante 2 minutos (si el procedimiento de centrifugación fue realizado con tubos de 15 ml se deberá agregar entre 0,2 y 0,4 ml de agua destilada a cada tubo y juntar su contenido en un solo tubo).

13. Antes de evaluar la cantidad de bacilos en la suspensión madre, realizar una verificación de la disposición de los bacilos tomando 30 µl de material para realizar un extendido de este preparado. Para ello agitar la suspensión bacilar durante 2 minutos usando un agitador tipo vortex, dispensar 30 µl del material en el centro de un portaobjetos y extender la suspensión empleando una punta de pipeta automática limpia para realizar un extendido de aproximadamente 2x1cm. Dejar secar en posición horizontal nivelada, luego fijar el

extendido durante 1 hora a 60ºC colocándolo sobre la superficie de una plancha calefactora y colorear por ZN. Verificar que la mayoría de los bacilos estén dispersos, ya que la aparición de bacilos en forma agrupada dificulta precisión en el conteo del N° de bacilos de la suspensión madre positiva. Si se observaran una proporción importante de bacilos dispuestos en grupos, es preferible eliminar la suspensión procesada y comenzar nuevamente el procedimiento.

14. Si se estuvieran procesando más de un tubo de muestras positivas, en este momento pueden juntarse aquellas suspensiones cuya disposición de los bacilos en los extendidos haya sido adecuada, previa agitación con un agitador tipo vortex de 2 minutos cada tubo.

15. Para realizar la cuantificación de los bacilos en la suspensión madre, tomar 30 µl de material y dispensar en el centro de un portaobjetos, como se explicó más arriba. Extender la suspensión empleando una punta de pipeta automática limpia para realizar un extendido de aproximadamente 2x1cm. Utilizando este procedimiento realizar tres extendidos, que se emplearán para evaluar la cantidad de bacilos de la suspensión madre. Es necesario usar una superficie bien nivelada para el secado de los extendidos.

16. Fijar los extendidos durante 1 hora a 60ºC usando la plancha calefactora.

17. Colorear los extendidos por la técnica de ZN.

18. Conservar la suspensión positiva a 2-8ºC si no se va a emplear inmediatamente.

19. Cada uno de los tres extendidos serán leídos por dos o tres lectores, de tal manera que para calcular la carga bacilar se tomará el promedio de las 6 o 9 lecturas realizadas por los 2-3 lectores.

20. Lo ideal es que el Stock de positivos tenga una concentración de entre 60-80 BAAR por campo. Si se obtiene una suspensión que contiene menor cantidad de bacilos/ campo, centrifugar y suspender en menor volumen de agua que el volumen original de la suspensión. Si se obtiene mayor cantidad de bacilos, diluir la suspensión con agua destilada. En caso de ajustarse la concentración, volver a realizar los pasos 15 a 19 de este procedimiento para el cálculo de la concentración bacilar del stock de positivos.

21. Identificar el tubo con el Stock de positivos con un N° arábigo y registrar los datos de volumen y fecha de preparación en el Formulario que se muestra en el Anexo C.2.

22. Esta preparación se puede guardar en el refrigerador por varios meses.

Preparación del stock de negativos

Volumen de muestra: 3-4 ml

1. Distribuir alícuotas de 3-4 ml de esputo negativo para BAAR en tubos de plástico con tapa a rosca de 50 ml de capacidad.

2. Agregar una gota (50 µl) de formol por cada ml de esputo. Mezclar usando un agitador tipo vortex.

3. Incubar durante una hora a temperatura ambiente, agitar mediante agitador tipo vortex cada 10 minutos.

4. Agregar 1 ml de NaOH 4% (si el esputo es muy consistente agregar hasta 2 ml de modo de llegar a una concentración final siempre cercana a 1-2 %).

5. Agitar usando el agitador tipo vortex 4-5 min.

6. Agregar albúmina 0,2 % hasta completar los 20 ml y mezclar por inversión (NOTA: esta suspensión puede hacerse también empleando agua destilada, pero se recomienda la utilización de la solución de albumina bovina para favorecer la adhesión de la suspensión al portaobjetos)

7. Incubar en baño maría o bloque térmico a 55-60ºC durante 10 minutos. (NOTA: el esputo negativo debe calentarse por un período más corto que el positivo para preservar la integridad de los leucocitos). Esta preparación se usa como diluyente en el proceso de dilución del stock de positivos.

8. Preparar dos extendidos usando 30 µl de la de stock de negativos (siguiendo las instrucciones mencionadas más arriba) a fin de comprobar que la preparación se fije al portaobjetos y que los leucocitos han preservado su forma, antes de utilizarla para diluir el stock de positivos. Los extendidos deben ser fijados durante al menos una hora a 60ºC. Si luego de colorearlos por ZN, el preparado mantiene buena adherencia al portaobjetos y la apariencia de las láminas es similar a la de un extendido preparado a partir de una muestra de esputo (con leucocitos de morfología conservada), se considera que esta suspensión puede emplearse como diluyente para la preparación de los lotes de extendidos.

Notas:

- Para la lectura e interpretación de los resultados, es importante que la apariencia de los extendidos sea más o menos consistente, y por ello es beneficioso mantener el número de leucocitos tan estable como sea posible en las distintas diluciones. Para eso, se sugiere diluir los esputos negativos con agua destilada (previo al agregado del NaOH), cuando la cantidad de leucocitos es alta.

- Registrar las características de la muestra negativa utilizada para preparar el stock de negativos (Fecha de recolección, número de registro de muestra y calidad de la muestra) en el Formulario que se muestra en el Anexo C.3. La información acerca de la calidad de la muestra original (ej.: mucosa, mucopurulenta, blanca, verdosa) puede ser de utilidad para determinar posteriormente cuáles de ellas pueden asociarse con lotes consistentes.

Diluciones

1. Usando la suspensión negativa hacer diluciones del stock de positivos para obtener concentraciones de bacilos que se ajusten a las cuatro categorías de resultados positivos de la escala semicuantitativa recomendada por OMS para lecturas baciloscópicas (se recomienda preparar al menos 50-100 láminas de cada suspensión para tener suficientes disponibles para los duplicados

(5 coloreados y 5 sin colorear) en cada panel, en caso que se haya decidido enviar tanto paneles coloreados como no coloreados).

2. Preparar alrededor de 4 ml de cada suspensión que se van a emplear para los extendidos Positivos (3+), Positivos (2+), Positivos (1+) y contables (1-9 BAAR). Con estas cantidades será posible la obtención de alrededor de 120 extendidos de cada grado de positividad (si se realizan extendidos con 30 µl de suspensión).

3. Para la preparación de la suspensión más concentrada emplear el siguiente cálculo:

$$N = CD * A / CR$$

N: ml de la suspensión positiva concentrada que se va a agregar
CD: concentración deseada de la suspensión de BAAR a preparar
A: volumen total a preparar de la dilución deseada
CR: concentración real de BAAR de la suspensión positiva concentrada

Por ejemplo, para la preparación de la suspensión Positivo 3+ a partir de una suspensión de stock de positivos con una concentración real de 80 BAAR/campo:

CD: la concentración deseada de BAAR a preparar es 50 BAAR/campo
A: es el volumen a preparar de la dilución deseada. Por ej. 5 ml
CR: la concentración de BAAR en la suspensión positiva concentrada, en este caso del stock de positivos cuya concentración se obtuvo del promedio de las 6 o 9 lecturas realizadas por los 2-3 lectores. Por ej.: 80 BAAR/campo
N (ml del stock de positivos a agregar)= 50 BAAR/campo x 5 ml/ 80 BAAR/campo = 3,1 ml de solución de stock de positivos

El volumen de stock de negativos a agregar puede calcularse con la siguiente fórmula:

X (volumen de stock de negativos) = volumen final – N
En este ejemplo X= 5 ml – 3,1 ml = 1,9 ml

Es decir que para obtener 5 ml de suspensión Positivo 3+, agregar 3,1 ml de stock de positivos y 1,9 ml del diluyente negativo.

Diluciones para la obtención de las láminas positivas					Denominación de la suspensión bacilar obtenida
Escala	Concentración esperada de BAAR	Concentración que se desea preparar para obtener la concentración esperada de BAAR (CD)	Cálculo de volúmenes para obtener 4 ml de cada suspensión		
			Cálculo del volumen de cada dilución a agregar para la obtención de 5 ml de cada suspensión	Volumen de stock negativo a agregar	
Positivo (3+)	>10 BAAR/ campo	50 BAAR/campo	50 BAAR/campo x 5ml/CR= N	5ml - N	I
Positivo (2+)	1-10 BAAR/ campo	10 BAAR/campo	10 BAAR/campo x 5 ml/50 BAAR/campo= 1ml de I	5 ml – 1ml = 4ml	II
Positivo (1+)	10-99 BAAR/100 campos	2 BAAR/campo	2 BAAR/campo x 5 ml / 10 BAAR/ campo= 1ml de II	5 ml – 1ml = 4ml	III
Positivo (1 -9 BAAR)	1-9 BAAR/100 campos	40 BAAR/100 campos	40 BAAR/100 campos x 5 ml/2 BAAR/ campo= 1ml de III	5 ml – 1ml = 4ml	IV

4. Para el resto de las diluciones proceder en forma similar, considerando que a partir de la suspensión Positivo (3+) se prepara la suspensión Positivo (2+), de la suspensión Positivo (2+) se prepara la Positivo (1+) y de la suspensión Positivo (1+), se prepara la suspensión Positivo (1-9 BAAR), siguiendo la siguiente guía:

CR: la concentración real de BAAR en el stock de positivos obtenida mediante el cálculo del promedio de las 6 o 9 lecturas microscópicas realizadas por los 2-3 lectores
N: ml del stock de positivos a agregar

Nota: Nótese que las concentraciones deseadas (CD) de cada suspensión bacilar corresponden a suspensiones con N° de bacilos/campo mayores a las que se esperarían según las categorías de la escala de cuantificación de la baciloscopia (concentración esperada de bacilos). La experiencia global de varios laboratorios demuestra que el empleo de concentraciones menores a las establecidas en la tabla da lugar a lotes de láminas con menor cantidad de bacilos por campo que lo esperado.

Procedimiento operativo para la realización de las diluciones

1. Marcar 4 tubos con tapa a rosca de 15 ml como Positivo (3+) (I), Positivo (2+) (II), Positivo (1+) (III) y 1-9 BAAR (IV) y colocar en una gradilla.

2. Colocar las suspensiones del stock de positivos y stock de negativos en la misma gradilla.

3. Agitar mediante agitador tipo vortex el stock de negativos durante 20 segundos y colocar X ml en el tubo identificado como Positivo 3+ (I) (en el ejemplo 1,9 ml de stock de negativos)

4. Agitar mediante agitador tipo vortex el stock de positivos durante 2 minutos y agregar los N ml del stock de positivos en el mismo tubo (I) (en el ejemplo 3,1 ml de stock de positivos)

5. Agitar mediante agitador tipo vortex 20 segundos el stock de negativos y distribuir 4 ml en cada uno de los tubos II, III y IV.

6. Colocar 1 ml de I (previamente homogeneizado por agitación usando un agitador tipo vortex durante 2 minutos) en el tubo II (Positivo 2+) y agitar 2 minutos mediante agitador tipo vortex.

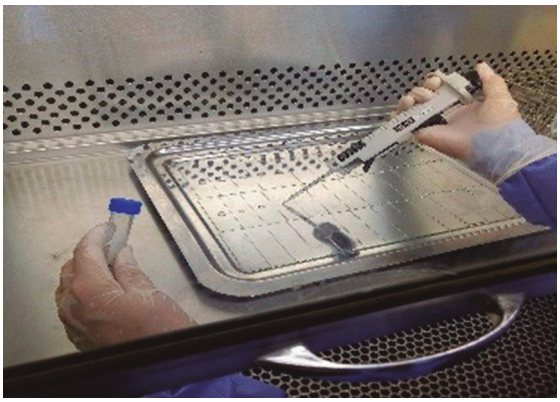
7. Colocar 1 ml de II en el tubo marcado como tubo III (Positivo 1+) y agitar 2 minutos mediante agitador tipo vortex.

8. Colocar 1 ml de III en el tubo marcado como IV (Contable (1-9 BAAR)) y agitar 2 minutos mediante agitador tipo vortex.

9. Identificar cada dilución del stock de positivos (I, II, III y IV) con un número único que corresponde a la identificación del lote de láminas que se prepararán con dicha dilución. Colocar cada número en cada tubo de 15 ml que contiene la suspensión bacilar correspondiente y anotarlo en el Registro de desarrollo y validación de lotes de láminas (Anexo C.3). Se recomienda usar números secuenciales de dos dígitos (01, 02, 03....22, 23, etc.).

10. Mezclar por 30 segundos cada dilución antes de cargar la punta de la pipeta multidispensadora para hacer los extendidos.

11. Dispensar 30 µl de cada suspensión (medida con pipeta multidispensadora) en el centro de las láminas, que deben haber sido previamente colocadas sobre bandejas de aluminio/plástico identificadas con el N° de lote asignado para la dilución correspondiente (I, II, III y IV), que figura en el Registro de desarrollo y validación de lotes de láminas (Anexo C.3).



Procedimiento para la distribución de 30 µl de suspensiones bacilares sobre los portaobjetos utilizando una pipeta multidispensadora

12. Usando una punta limpia de una micropipeta para cada una de las diluciones dibujar un óvalo 2-3 cm de ancho por 1 cm de largo.

13. Dejar secar en posición horizontal nivelada.

Validación de las láminas

1. Tomar 6 extendidos de cada lote de diluciones, identificar el lote al que corresponde cada lámina usando un marcador y fijar los extendidos durante una hora a 60°C colocándolos sobre una plancha calefactora.



Lotes extendidos fijándose sobre la plancha calefactora a 60ºC

2. Colorear por ZN

a. Los extendidos deben ser leídos al menos por 2 técnicos distintos.

b. Para positivos 2+ y 3+ los técnicos pueden estimar el Nº promedio de bacilos por campo leyendo 50 campos.

c. Para positivos débiles (Positivos 1+ o 1-9 BAAR) leer al menos 300 campos.

3. Registrar las lecturas que cada lector realizó en los 6 extendidos usando el Formulario que se muestra en el Anexo C.3.

4. Calcular la lectura media y la desviación estándar (DS) de las lecturas del total de lectores y registrarlas en el Formulario del Anexo C.3.

El cálculo del desvío estándar puede hacerse con una calculadora científica, usando una hoja de cálculo del programa Excel o similar o utilizando la siguiente fórmula:

$$\sqrt{\frac{n \sum x^2 - (\sum x)^2}{n\,(n-1)}}$$

Donde x= es la lectura obtenida por cada lector expresada en promedio de BAAR/ campo contados en cada examen y n es el número de lecturas que realizaron los lectores (por ejemplo, a partir de dos lectores que leen 6 láminas se generarán 12 lecturas, es decir n=12).

Si el promedio menos dos desvíos estándares (X – 2DS) da mayor que 0, considerar que el lote tiene consistencia y tomar la decisión de "aceptarlo", es decir se considera que en dicho lote la variación en el N° de BAAR por lámina es pequeña, por lo que puede ser utilizado en forma confiable para la preparación de paneles para evaluar el rendimiento de los microscopistas.

En el siguiente ejemplo se han registrado las lecturas de 2 microscopistas para 6 láminas de dos lotes de extendidos (38 y 39), cuyos resultados esperados son Positivo (1+) y Positivo (1-9 BAAR), respectivamente.

			Evaluación de los extendidos																
	Preparación de extendidos		Resultados de las lecturas (promedio de BAAR/100 campos)																
N° de Lote	N° láminas prepara-das	Resultado esperado	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	X	DS	Consistencia	Decision	Resultado de la lectura
38	120	Pos (1+)	0,1	0,07	0,15	0,50	0,30	0,54	0,80	0, 10	0,09	0,45	0,15	0,60	**0,32,**	**0,25**	No	Rechazado	
39	120	Pos(1-9)	0,05	0,04	0,03	0,06	0,03	0,04	0,05	0,02	0,05	0,05	0,06	0,04	0,04	0,01	Si	Aceptado	Pos(1-9)

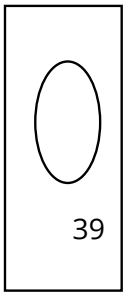
En el caso del lote 38, el valor del promedio menos 2 DS da menor que 0, por lo que el lote carece de consistencia y es rechazado, mientras que el lote 39 es aceptado ya que el promedio de las 12 lecturas menos 2 DS da mayor que 0.

5. Cuando el lote ha sido aceptado, registrar este hallazgo en el Formulario del Anexo C.3.

6. Fijar las láminas con calor.

7. Identificar todas las láminas preparadas con el N° asignado a la dilución correspondiente que ha sido anotado en el Registro del Anexo C.3. Se recomienda grabar el número asignado con lápiz de diamante en el extremo derecho del ancho del portaobjetos.

En el caso del ejemplo anterior, las láminas preparadas con la suspensión bacilar correspondiente al lote 39 deberán ser grabadas como se sugiere en el siguiente esquema:



6. Si el lote es rechazado, desechar las láminas.

Almacenamiento y conservación de los lotes de láminas.

1. Guardar los extendidos fijados al calor. Los mismos pueden ser conservados por meses si son guardados en lugar fresco y seco. El tiempo exacto de conservación de los frotis sin que su calidad se encuentre afectada no ha sido determinado. Sin embargo, la experiencia de algunos laboratorios regionales muestra que el tiempo conveniente de conservación es de 4 – 6 meses.

Numeración de los lotes de láminas para la preparación de los paneles

Para la preparación de los paneles de láminas a partir de los lotes de extendidos pueden emplearse dos metodologías:

• El LNR puede producir muchos paneles idénticos; es decir todos los laboratorios reciben el mismo número de lámina, del mismo lote y con los mismos resultados esperados. Cuando se usan paneles idénticos, el LNR puede completar un único Registro (Anexo C.4) que puede contener los resultados para todas las láminas de un determinado panel que fueron enviados a distintos laboratorios.

• El LNR puede decidir enviar paneles diferentes a distintos laboratorios, es decir preparados a partir de los mismos lotes de láminas, pero numerados de distinta manera. Los paneles pueden diferir en el orden de los extendidos, de tal manera que el número asignado a cada lámina será distinto para cada laboratorio. Cuando se usa esta metodología, cada panel recibirá un número único y el LNR deberá llenar un Formulario por separado (Anexo C.4) para cada panel enviado. Aunque este procedimiento es útil para prevenir que los laboratoristas de distintos servicios compartan los resultados, es importante considerar que su utilización incrementará en forma considerable la logística y carga de trabajo para el LNR.

Para la numeración y registro de cada una de las láminas del panel se recomienda proceder como se detalla a continuación:

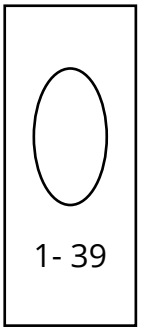
1. Identificar cada nuevo panel de láminas, asignándole un número en el Registro que se muestra en el Anexo C.4.

2. Si la conformación del panel es de 10 láminas, colocar números del 1 a 10 en el apartado “Lámina N°” de dicho Registro.

3. Utilizando la información del Formulario del Anexo C.3, registrar en el Formulario del Anexo C.4, las láminas que conformarán el panel, identificándolas por el lote y el resultado esperado. Indicar también, si el panel está conformado por láminas coloreadas o no coloreadas.

4. Utilizando la información registrada recientemente en el Formulario del Anexo C.4, identificar cada uno de los extendidos del panel, mediante el grabado del número correspondiente a la lámina (número de 1 a 10 para el ejemplo de 10 láminas/ panel) delante del N° del Lote (grabado previamente con el número correspondiente al Formulario del Anexo C.3). Por ejemplo, cuando un extendido se identifica como 1-39, ello significaría que “1” es el número de lámina del Formulario del Anexo C.4 y “39” el número del Formulario del Anexo C.3 es decir el número de lote. Se recomienda grabar estos números usando un lápiz con punta de diamante.

Esquema de identificación
de la lámina de un panel (*)



(*) El N° “1” corresponde al N° de lámina del panel, y el “39” indica que dicha lámina fue preparada con la suspensión bacilar correspondiente al lote 39.

Anexo C.2. Registro de stock de positivos

Evaluación externa de calidad de baciloscopías mediante Pruebas de aptitud

Anexo C.2: Registro de desarrollo de stock de positivos

Stock Nº	Muestra/s empleada/s	Recuento BAAR/ campo	Volumen	Fecha de proceso	Laboratorista responsable

Instructivo

Stock N°: identificar con un código el stock de positivos.
Muestra/s empleada/s: identificar la/s muestra/s empleadas para la preparación del stock de positivos.
Recuento BAAR/campo: indicar el recuento final que se obtuvo. Lo ideal es obtener entre 60-80 BAAR por campo.
Volumen: indicar el volumen final del stock preparado.
Fecha de proceso: colocar la fecha de procesamiento. Tener en cuenta que esta preparación se puede guardar en refrigerador a 4-8°C por varios meses.
Laboratorista responsable del procedimiento: el técnico responsable del procedimiento.

Evaluación externa de calidad de baciloscopías por Pruebas de aptitud

Anexo C.3: Registro de desarrollo y validación de lotes de láminas

								Evaluación de los extendidos																
	Caracteristicas de la muestra (-)				Preparacion de extendidos			Resultados de las lecturas																
Lote Nº	Fecha de recole cción	Nº de registro de la muestra	Calidad de la muestra	Stock (+) Nº	Nº laminas preparadas	Resultado esperado	Fecha proceso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	X	DS	Consistencia	Decisión	Resultado de la lectura

Anexo C.3. Registro de preparación y validación de lotes de láminas

Instructivo

Número de lote: Corresponde a los números secuenciales de dos dígitos (01, 02, 03….22, 23, etc.) que se le asigna a cada dilución del stock de positivos.

Características de la muestra negativa

Fecha de recolección: fecha en que se recogió la muestra del paciente.

Número de registro de la muestra: número con el que se registró esa muestra en el libro de laboratorio.

Calidad de la muestra: mucosa, mucopurulenta, salivosa.

Preparación de los extendidos

Número de stock de positivos: indicar el N° de stock de positivos que se ha empleado para la preparación del lote (del Formulario que aparece en el Anexo C.2).

Número de láminas preparadas: el laboratorio debe anotar cuántas láminas ha realizado de cada dilución del stock de positivos para determinar cuántas estarán disponibles para preparar los paneles.

Resultado esperado: indicar el resultado semicuantitativo del lote que se pretende preparar, es decir Pos 3+, Pos 2+, Pos 1+ o Pos (1 a 9 BAAR).

Fecha de proceso: es el día en que se realizan.

Evaluación de los extendidos

Resultados de las lecturas (BAAR/100 campos) (Columnas 1-12): cada columna representa el promedio número de BAAR/100 campos para 6 extendidos diferentes seleccionados de la muestra y preferiblemente leídos por al menos 2 diferentes lectores. Para los positivos 2+ y 3+ el técnico puede estimar el número de BAAR/100 campos seleccionando 50 campos representativos, para los positivos débiles (“contables” o 1+) y para los negativos se deberán leer al menos 300 campos por extendido y anotar el número promedio de BAAR en 100 campos.

Promedio y Desvío estándar: el laboratorio puede usar el programa en Excel u otro similar que genere automáticamente los datos de las columnas promedio, desviación estándar y consistencia. La desviación estándar también puede calcularse usando los datos de las columnas 1-12, con la fórmula:

$$\sqrt{\frac{n\sum^{2} - (\sum x)^{2}}{n\,(n-1)}}$$

Donde x= es la lectura obtenida por cada lector y n es el número de lecturas que realizaron los lectores (por ejemplo, a partir de dos lectores que leen 6 láminas se generaran 12 lecturas, es decir n=12).

Consistencia (promedio menos 2 desviaciones estándar): Si el promedio menos dos desvíos estándares (X – 2DS) da

mayor que 0, se considera que el lote tiene buena consistencia. En ese caso en esta columna se colocará "Si" Si, en cambio, la consistencia no es buena, es decir que hay gran variación en el número de BAAR por lámina, los extendidos de esa dilución no pueden ser utilizados para la Prueba de aptitud y deben ser desechados. En este caso en esta columna se colocará "No".

Decisión: Si el lote resultó con consistencia en esta columna se colocará "Aceptado". Si en cambio la consistencia fue negativa, en esta columna se colocará "Rechazado".

Resultado de la lectura: Este espacio se reserva para indicar el resultado de la lectura en términos semicuantitativos es decir Pos 3+, Pos 2+, Pos1+, Pos (1 a 9 BAAR) y Negativo.

Evaluación externa de calidad de baciloscopías mediante Pruebas de aptitud

Anexo C.4: Registro de Paneles

Panel Nº
Fecha de envio del panel:

Resultados de los paneles

Lámina Nº	Coloreado Si/No	Lote Nº	Resultado esperado	Laboratorios										
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Observaciones
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														

Anexo C.4: Registro de paneles de extendidos

Este registro es útil para anotar los extendidos que conforman el panel y registrar los resultados esperados para los extendidos de cada panel. También debe ser utilizado para anotar y evaluar los resultados de uno o más laboratorios que participan de la prueba.

Instructivo

Número de panel: éste es un número de identificación único para cada panel. Si se envían paneles idénticos a varios laboratorios todos deberán llevar el mismo número.

Fecha de envío del panel: fecha en que se envía el panel de láminas.

Lámina N°: éste es un único número que debe ser marcado en la lámina, delante del número de lote. Si el panel es de 10 láminas, este N° será de 1 a 10.

Coloreado Si/No: esta columna es utilizada para registrar si el extendido será enviado coloreado o sin colorear.

Lote N°: es el número asignado a los extendidos de cada lote, que figura en la columna correspondiente en el Formulario del Anexo C.3.

Resultados esperados: es el resultado validado por dicho laboratorio que figura en la columna "Resultados de la lectura" en el Registro del Anexo C.3. Este es el resultado esperado que debe compararse con el obtenido por el Laboratorio que realiza la prueba.

Resultados de las lecturas: es el resultado de la lectura de cada lámina informado por cada Laboratorio que realiza la prueba de aptitud.

Observaciones: espacio opcional para evaluar la consistencia de una determinada lámina después de la lectura de los paneles o para otras notas.

Evaluación externa de calidad de baciloscopias mediante Pruebas de aptitud
Anexo C.5: Formulario de registro de resultados de la lectura de paneles

Para uso del Laboratorio Referencia

Nº de panel de láminas: ....
Fecha de envío: ..../..../....
Fecha recepción resultados: ..../..../....
Nombre del Servicio: .....
Dirección: .....
Ciudad: ..... Código postal: .....

Para ser completada en el servicio que recibe el panel

Fecha de recepción del panel: ...../...../.....
Fecha de envío de resultados al Laboratorio de Referencia: ...../...../.....
Nombre del profesional/técnico que realiza la prueba de aptitud: .....
(Si en su laboratorio son varias las personas que leen baciloscopias cada uno de ellos debe leer las láminas por separado, y anotar sus resultados en una planilla diferente. Por favor no develar a cada lector ni comparar los resultados de cada lector hasta haber enviado las planillas con los resultados al Laboratorio de Referencia).

Número	Resultado de las lecturas de las láminas (*)	Comentarios
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

(*) Use la escala semicuantitativa sugerida por las normas nacionales: Neg (-); 1-9 BAAR; Pos 1+; Pos 2+; Pos 3+

Fecha: ...../...../..... Firma: .....

Anexo C.5. Formulario de registro de resultados de la lectura de paneles

Es un formulario estándar que se envía junto al panel de láminas para ser completado por el laboratorio a evaluar y regresado al Laboratorio de Referencia. Parte de esta información debe ser completada por el Laboratorio de Referencia y el resto por el Laboratorio participante de la prueba. Incluir el INSTRUCTIVO PARA LA LECTURA DE PANELES DE LÁMINAS al reverso de este formulario.

Instructivo

A completar por el Laboratorio de Referencia

Número de panel de láminas: es el mismo número de panel del Registro del Anexo C.4. Esto permite al LR comparar los resultados del Laboratorio con los esperados registrados en el Registro del Anexo C.4.
Fecha de envío: fecha en que se envía el panel de láminas.
Fecha de recepción de resultados: fecha en que se reciben los resultados en el LR.
Nombre y dirección del servicio al que se envía el panel.

Para ser completada en el servicio que recibe el panel

Fecha de recepción del panel: fecha en que se recibe el panel de láminas en el Laboratorio a supervisar

Fecha de envío de resultados al Laboratorio de Referencia: fecha en que se envían los resultados del panel al LR.

Nombre del profesional/técnico: nombre del profesional/técnico que realiza la prueba. Si son varios los técnicos que lo hacen cada uno de ellos debe registrar un formulario por separado.

Tabla de resultados de la prueba.

Número de lámina: son los números de las láminas de cada panel y generalmente corresponden del 1 al 10.

Resultados del laboratorio local: el microscopista debe registrar el resultado de la lectura de la lámina en la forma indicada en el manual de normas.

Fecha: es la fecha en que fue completada la tabla por el microscopista.

Firma: es la firma del técnico que realizó la lectura.

INSTRUCTIVO PARA LA LECTURA DE PANELES DE LAMINAS (*)

1. Concepto

La lectura de paneles de láminas es una modalidad de evaluación externa de calidad utilizada para determinar las habilidades del personal del laboratorio en realizar la lectura e informe de resultados de la baciloscopia;

se realiza mediante el envío de un panel de extendidos preparados en el laboratorio nacional de referencia (LNR).

2. Procedimiento
2.1. Lecturas

Usted recibió un panel de láminas preparadas en el LNR, compuesto por láminas coloreadas y no coloreadas. Le proponemos que las mismas sean leídas en su laboratorio por la persona o personas que tienen a su cargo esta tarea y en lo posible con la misma dedicación con la que lo hacen habitualmente.

Cada técnico debe examinar los extendidos e informar en forma separada; los resultados no deben ser compartidos con otros técnicos; no es aceptable que el informe sea grupal. En caso de que sean más de una las personas que realizan lecturas le aconsejamos duplicar esta planilla en tantos ejemplares como microscopistas vayan a ser evaluados y que cada una de ellos lea y registre el resultado de la lectura de las láminas del panel por separado. En este caso es conveniente que cada planilla sea identificada por el nombre del lector o bien por un código elegido al azar por el propio lector.

Los resultados de las lecturas deben ser colocados en la columna “Resultado de las lecturas de las láminas”.

2.2. Conservación de las láminas sin colorear y coloración

Si las láminas no van a ser coloreadas inmediatamente, le recomendamos guardarlas en lugar seco, ya que, en presencia de excesiva humedad ambiente, los extendidos tienden a desprenderse durante la coloración. El panel de extendidos sin colorear debe ser coloreado por uno de los laboratoristas del servicio y leído por la/s persona/s que tienen a su cargo esta tarea en forma independiente, tal como se mencionó más arriba.

3. Envío de formularios con los informes de las lecturas realizadas por los laboratoristas

Después de completar la prueba, recomendamos que retire el exceso de aceite de inmersión de los extendidos, dejándolos en posición vertical sobre un papel absorbente hasta el día siguiente y luego colocando suavemente un papel absorbente sobre los mismos. Una vez limpio, el panel, junto a los formularios con los informes, deberá ser remitido al Laboratorio de referencia que le remitió el panel.

El plazo para la realización de la prueba se ha establecido en un mes a partir de la recepción del panel en su laboratorio.

4. Comparación de resultados

Usted recibirá a la brevedad posible una planilla en la que se habrá agregado los resultados de lectura realizadas en el Laboratorio de Referencia y recomendaciones, en caso de que fuera necesario hacerlas. El informe será confidencial e individual.

Desde ya agradecemos su disposición para lograr juntos la mejor calidad en el diagnóstico de la tuberculosis.

(*) Ejemplo para una prueba de aptitud que incluye láminas coloreadas y no coloreadas, y contempla la devolución del panel al LR junto al informe de resultados. Este instructivo debe ser modificado ajustándolo a las características de la prueba diseñada para cada red de laboratorios.

Evaluación externa de calidad de baciloscopias mediante Pruebas de aptitud

Anexo C.6: Formulario de informe de resultados de la lectura de paneles de láminas

Nombre del Servicio: .....
Dirección: .....
Ciudad: .....Código postal: .....
Nº de panel de láminas: ....
Fecha de recepción de las láminas: ...../...../.....
Fecha de envío de resultados al Laboratorio de Referencia: ...../...../.....
Nombre del profesional o técnico que realiza la prueba de aptitud:.....

Número	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio supervisado	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio de referencia	Tipo de error (*)	Puntaje
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

Discordancias (**)
Nº FPB= Nº FPA= Nº FNB= Nº FNA= Nº EC=
Puntaje obtenido=
Observaciones:
Recomendaciones:

Fecha: ...../...../..... Firma: .....

(*) Complete con el tipo de error identificado después que las discordancias fueron corroboradas por el LR (FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC; error de cuantificación).
(**) Complete el número de errores de cada tipo encontrado en el laboratorio supervisado después que las discordancias fueron corroboradas por el LR.

Anexo C.6. Formulario de informe de resultados de la lectura de paneles de láminas

Este formulario se ha preparado para realizar el informe de los resultados de las lecturas de cada microscopista.

Cuenta con encabezado en el que se coloca el nombre y la dirección del servicio donde trabajan el/los microscopista/s evaluado/s. También se indica la identificación del panel leído, la fecha de recepción de las láminas por el laboratorio supervisado y la fecha de envío de resultados al LR (ambas fechas deben ser obtenidas de la información vertida en el Formulario del Anexo C.5). Además, se identifica el profesional o técnico que realiza la prueba de aptitud.

Instructivo

Tabla de resultados de la prueba

Número de lámina: son los números de las láminas de cada panel y generalmente corresponden del 1 al 10.

Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio supervisado: se coloca aquí el resultado de la lectura de la lámina informado por el microscopista (del Formulario del Anexo C.5).

Resultado de las lecturas de láminas en el LR: se coloca aquí la lectura esperada para cada lámina, previa relectura del frotis en el LR en caso de discordancia cuando el protocolo de la prueba prevé la devolución de las láminas.

Tipo de error: en el caso de existir discordancias, estas serán indicadas en esta columna, identificando el tipo de error según se describe en la Tabla 5 del Manual.

Puntaje: es el puntaje asignado a cada lámina según el sistema establecido por el LR.

Discordancias: completar el número de errores de cada tipo encontrados.

Puntaje obtenido: es el puntaje total obtenido según el sistema de puntaje establecido por el LR en base a la clasificación de los errores y que resulta de la suma de los puntajes obtenidos para cada lámina que figuran para la columna “Puntaje” de la Tabla.

Observaciones: se describen las probables causas de error y sus consecuencias.

Recomendaciones: se describen las recomendaciones para subsanar las posibles causas de los errores identificados.

Evaluación externa de calidad de baciloscopías mediante Pruebas de aptitud

Anexo C.7: Informe anual de la evaluación por paneles

Provincia/estado/departamento _____

Período en que se realizó la prueba _____

Criterio de aprobación: _____

Laboratorio	Volumen anual de baciloscopías	Tasa de positividad (%)	Técnicos participantes de la prueba	Puntaje	FPA	FNA	FPB	FNB	EC	Total de errores
Totales y promedios del distrito										

FPA - falsos positivos altos; FNA - falsos negativos altos; FPB - falsos positivos bajos; FNB - falsos negativos bajos; EC - errores de cuantificación

Informe preparado por _____ Fecha _____

Anexo C.7. Informe anual de la evaluación por paneles

Este formulario sirve para registrar en forma condensada los resultados obtenidos por los laboratorios participantes de la prueba en un área/región/departamento durante un período determinado.

Instructivo

Provincia/estado/departamento: identificar el área a la que corresponde la información.

Período en que se realizó la prueba: indicar el período al que corresponde el informe.
Criterio de aprobación: establecer el puntaje y los requerimientos para la aprobación de la prueba de aptitud.

Tabla de información resumida

Laboratorio: indicar el nombre de los laboratorios participantes de la prueba de aptitud.

Volumen anual de baciloscopias: indicar el n° total de baciloscopias realizadas por el laboratorio supervisado durante el período que cubre el informe de resultados.

Tasa de positividad: indicar el porcentaje de baciloscopias positivas que posee el laboratorio supervisado durante el período que cubre el informe de los resultados.

Técnicos participantes de la prueba: identificar los técnicos participantes de la prueba en cada uno de los laboratorios incluidos en la evaluación. Se emplea una línea por participante. Observar que los datos de volumen anual de baciloscopias y porcentaje de positividad, corresponden a los laboratorios en que trabaja el microscopista participante de la prueba de aptitud.

Puntaje: indicar el puntaje obtenido por cada microscopista.

FPA, FNA, FPB, FNB, EC y Total de errores: completar el número de errores de cada tipo encontrados.

Totales y promedios del distrito: indicar el N° total de baciloscopias y el promedio de positividad de los laboratorios del área a la que corresponde el informe. Indicar además los totales para cada tipo de error y para todos los errores cometidos por los microscopistas.

Informe preparado por: indicar el responsable del informe y la fecha de realización del mismo.

Anexo C.8. Ejemplos de informe de pruebas de aptitud para la EEC de baciloscopias

Ejemplo 1

El siguiente es un modelo de informe de resultados elaborado por el LR para el Laboratorio Regional en base a los resultados de la lectura de dos paneles de láminas, uno coloreado y otro no coloreado. Cada uno de ellos estaba compuesto por 10 láminas.

Informe de resultados de la lectura de paneles de láminas

Nombre del Servicio: Hospital Regional
Dirección: XXX
Ciudad: AAAA **Código postal:** OOOO.
Panel N° 8/17
Fecha de recepción de las láminas: 15/11/17
Fecha de envío de resultados al LR: 31/11/17
Nombre del profesional o técnico que realiza la prueba de aptitud: AN
Panel coloreado

Número	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio supervisado	Resultado de las lecturas de láminas en el LR	Tipo de error (*)	Puntaje
1	Pos(+)	Pos(+)		10
2	Neg	Neg		10
3	Pos(+)	Pos(+)		10
4	Neg	Neg		10
5	Pos (6 BAAR)	Pos (1-9 BAAR)		10
6	Neg	Neg		10
7	Pos (++)	Pos (++)		10
8	Neg	Neg		10
9	Neg	Neg		10
10	Pos (++)	Pos (++)		10

(*) FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC: error de cuantificación

Discordancias
Nº FPB= 0 Nº FPA= 0 Nº FNB= 0 Nº FNA= 0 Nº EC= 0

Puntaje obtenido=100

Observaciones: Excelente lectura.

Informe de resultados de la lectura de paneles de láminas

Nombre del Servicio: Hospital Regional
Dirección: XXX
Ciudad: AAAA **Código postal:** OOOO.
Panel N° 9/17
Fecha de recepción de las láminas: 15/11/17
Fecha de envío de resultados al LR: 31/11/17
Nombre del profesional o técnico que realiza la prueba de aptitud: AN
Panel No coloreado

Número	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio supervisado	Resultado de las lecturas de láminas en el LR	Tipo de error (*)	Puntaje
1	Neg	Neg		10
2	Pos (+)	Pos (++)		10
3	Neg	Pos (1-9 BAAR)	FNB	5
4	Neg	Neg		10
5	Neg	Pos (+)	FNA	0
6	Neg	Neg		10
7	Neg	Neg		10
8	Pos (++)	Pos (+++)		10
9	Neg	Pos (+)	FNA	0
10	Neg	Neg		10

(*) FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC: error de cuantificación

Discordancias
Nº FPB= 0 Nº FPA= 0 Nº FNB= 1 Nº FNA= 2 Nº EC= 0

Puntaje obtenido=75

Observaciones: Se identificaron dos errores FNA y un error FNB. Estos errores pudieron ser determinados sólo luego de recolorear las láminas del panel, lo que evidencia problemas en la calidad de los colorantes o en la técnica de coloración. Adicionalmente en las láminas positivas (N°12 y 18) remitidas por el laboratorio, los bacilos se observaban de color rosa pálido, coincidiendo con la identificación de problemas en los colorantes/ coloración. El hecho de que, utilizando el panel coloreado (N°8/17), el técnico haya mostrado un rendimiento adecuado, evidencia que los errores identificados en este panel están asociados a los problemas de coloración.

Recomendaciones: Revisar la concentración de fucsina en la solución colorante, asegurar que el calentamiento de la fucsina sea hasta la liberación de vapores blancos, controlar el tiempo de exposición de la fucsina en caliente sobre el extendido (que no debe ser inferior a 5 minutos), revisar la fecha de caducidad de los colorantes empleados, así como el modo de conservación de los mismos. Adicionalmente se recomienda no sobrecalentar las láminas durante sufijación. Se coordinará la realización de una visita al laboratorio.

Fecha: 14/12/17 Firma: .....

Ejemplo 2

El siguiente es un modelo de informe de resultados elaborado por el LR para el Laboratorio del Hospital Regional en base a los resultados de la lectura de un panel coloreado compuesto por 10 láminas.

Informe de resultados de la lectura de paneles de láminas

Nombre del Servicio: Hospital Regional
Dirección: XXXX
Ciudad: AAA **Código postal:** OOOO
Panel N° 3/17
Fecha de recepción de las láminas: 14/03/17
Fecha de envío de resultados al LR: 25/03/17
Nombre del profesional o técnico que realiza la prueba de aptitud: O.P
Panel coloreado

Número	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio supervisado	Resultado de las lecturas de láminas en el laboratorio de referencia	Tipo de error	Puntaje
1	Neg(-)	Pos (1-9)	FNB	5
2	Pos(+)	Pos(+)		10
3	Neg(-)	Neg(-)		10
4	Neg(-)	Neg(-)		10
5	Neg(-)	Neg(-)		10
6	Pos(+)	Pos(+)		10
7	Pos(++)	Pos(++)		10
8	Neg(-)	Neg(-)		10
9	Pos (++)	Pos(++)		10
10	Neg(-)	Neg(-)		10

(*) FPA: Falso positivo alto; FNA: Falso negativo alto; FPB: Falso positivo bajo; FNB: Falso negativo bajo; EC: error de cuantificación

Discordancias
Nº FPB= 0 Nº FPA= 0 Nº FNB= 1 Nº FNA= 0 Nº EC=0

Puntaje obtenido=95

Observaciones: Se identificó un error FNB. Este tipo de hallazgo se considera un error menor. Su ocurrencia está asociada a una limitación de la técnica de baciloscopia; debido a que los BAAR están distribuidos en el esputo en forma no homogénea, cuando la cantidad de bacilos es escasa, como ocurre en una muestra cuyo resultado ha sido informado con el número exacto de 1 a 9 BAAR, es posible que un técnico identifique estos BAAR al leer 100 campos microscópicos, mientras que otro técnico, que examine otros 100 campos microscópicos diferentes no sea capaz de encontrarlos.

Recomendaciones: Se recomienda leer detenidamente utilizando el micrómetro para observar todos los planos del extendido, examinando al menos 100 campos para declarar un extendido como negativo.

Fecha: 20/03/17 Firma: .....

ANEXO D - CULTIVO

Anexo D.1. Formulario de recolección de datos para el monitoreo del cultivo

Rendimiento del cultivo para el diagnóstico de la tuberculosis

Completar la siguiente información y enviar antes del **XX/XX/20XX,** a la siguiente dirección:
Nombre del laboratorio e Institución que organiza el control o recolecta la información
Dirección de la Institución que organiza o recolecta la información
Tel/Fax: ***Correo electrónico:***

Laboratorio participante: .....

A- MÉTODO APLICADO PARA EL CULTIVO:

A.1 –Utiliza medios propios si ☐ no ☐

En el caso que su respuesta sea NO incorporar el nombre del laboratorio proveedor de medios o marca comercial .....

A.2 - ¿Cuáles muestras cultiva?

a) TODAS las que recibe para investigar BAAR/ BK ☐
b) SELECCIONA las siguientes muestras (indicar): .....
.....
.....

A.3 - ¿Recibe muestras derivadas? si ☐ no ☐

Nombre los centros de toma de muestras, servicios de salud o laboratorios que le derivan
.....
.....
.....
.....
.....

Número de muestras de otros servicios que ha recibido durante el período que se analizará en B2a, B2b, B2c oB2d .....
.....

A.4 - Qué método(s) utiliza habitualmente para procesar las muestras que cultiva?

a) decontaminación y concentración por la técnica de Petroff ☐
b) decontaminación y concentración por la técnica de Petroff modificado ☐
c) el indicado por el fabricante para el sistema BACTEC MGIT ☐
d) el indicado por el fabricante para el sistema BacT/ALERT ☐
e) decontaminación y siembra por la técnica de Kudoh ☐
f) otros: ..... ☐

A.5 - ¿Qué tipo de muestra siembra en medio líquido (si está disponible)?
.....
.....

A.6 - Recibe en el formulario de solicitud de cultivo, en la mayor parte de los casos, información sobre:

	si	no
a) si las muestras que cultiva son para diagnóstico o control de tratamiento		
b) el mes de tratamiento antiTB en el que se encuentra el paciente		
c) si el paciente tiene antecedentes de tratamiento previo		
d) si el paciente tiene inmunodepresión		
e) si el paciente pertenece a algún otro grupo de riesgo para resistencia		

B- RUTINA DE TRABAJO:

B.1 - ¿Cuántas muestras de esputo se pide para hacer diagnóstico de tuberculosis? .....
.....

B.2 - Seleccione los resultados obtenidos de **CASOS** con **MUESTRAS RESPIRATORIAS DE PACIENTES ADULTOS PROCESADAS PARA DIAGNÓSTICO** correspondiente al período **(XX/XX/20XX - XX/XX/20XX)**, y complete (según corresponda a la metodología utilizada) los siguientes cuadros con las muestras cultivadas:

B.2a - Si pudo distinguir **a los pacientes cuyas muestras fueron procesadas para diagnóstico,** clasifique **los CASOS pulmonares de adultos (NO las muestras)** en la siguiente tabla:

	Casos con:	Número (casos)
a	Baciloscopia positiva y Cultivo positivo de CMTB	
b	Baciloscopia positiva y Cultivo no realizado	
c	Baciloscopia negativa y Cultivo positivo de CMTB	
d	Baciloscopia positiva y Cultivo negativo	
e	Baciloscopia positiva y Cultivo contaminado	
f	Baciloscopia no realizada y Cultivo positivo de CMTB	
	Pacientes con Baciloscopia negativa y Cultivo negativo	

Aporte del cultivo al diagnóstico = $\frac{c}{a + b + c + d + e}$ **x 100 = ... %**

B.2b - Si pudo distinguir **a los pacientes cuyas muestras fueron procesadas para diagnóstico,** clasifique **los CASOS pulmonares de adultos (NO las muestras)** en la siguiente tabla:

	Casos con:	Número (casos)
a	Xpert positivo y Cultivo positivo de CMTB	
b	Xpert positivo y Cultivo no realizado	
c	Xpert negativo y Cultivo positivo de CMTB	
d	Xpert positivo y Cultivo negativo	
e	Xpert positivo y Cultivo contaminado	
f	Xpert no realizado y Cultivo positivo de CMTB	
	Pacientes con Xpert negativo y Cultivo negativo	

Aporte del cultivo al diagnóstico = $\frac{c}{a + b + c + d + e}$ **x 100 = ... %**

B.3. Considere todas las muestras respiratorias (de diagnóstico y control de tratamiento) sembradas en medios líquidos (si procede) y sólidos e indique

a) N° de tubos de medios solidos sembrados: .....
b) N° de tubos de medios sólidos sembrados que resultaron contaminados: .....
c) N° de tubos de medios líquidos sembrados: .....
d) N° de tubos de medios líquidos sembrados que resultaron contaminados: .....

B.4 - Identifique los pacientes incluidos en las categorías a y b:

- Verifique si recibió de cada uno de ellos muestras de esputo para realizar el control de tratamiento- baciloscopía, Xpert y cultivo (durante los 6 meses posteriores al diagnóstico).

• ¿Cuántas muestras recibió en total de todos ellos para control de tratamiento?.....

B5. Análisis de la demora en la entrega de los informes de cultivo

B5.a. Muestras sembradas en medio sólido

Nº de Informes de cultivo emitidos a término informados dentro de los

- 21 días (baciloscopías positivas y/o Xpert positivo) de procesada la muestra: .....
.....
- 63 días (baciloscopías negativas o Xpert negativo o trazas) de procesada la muestra:.....

Nº total de informes de cultivo emitidos: .....

B5.b. Muestras sembradas en medio líquido

Nº de informes de cultivo emitidos a término informados dentro de los

- 8 a 10 días (baciloscopías positivas y/o Xpert positivo) de procesada la muestra: .....
.....
- 43 días (baciloscopías negativas y/o Xpert negativo o trazas) de procesada la muestra:
.....

Nº total de informes de cultivo emitidos: .....

B.6 - Por favor, adjunte a este formulario una fotocopia de:

• El modelo de formulario que recibe, solicitando cultivo de la muestra.
• La última hoja completa que tenga del registro que su laboratorio emplea para muestras recibidas para el diagnóstico de TB mediante cultivo.
• El último informe de cultivo positivo y el último informe de cultivo negativo que haya emitido su laboratorio.

Firma: .....

Aclaración.....

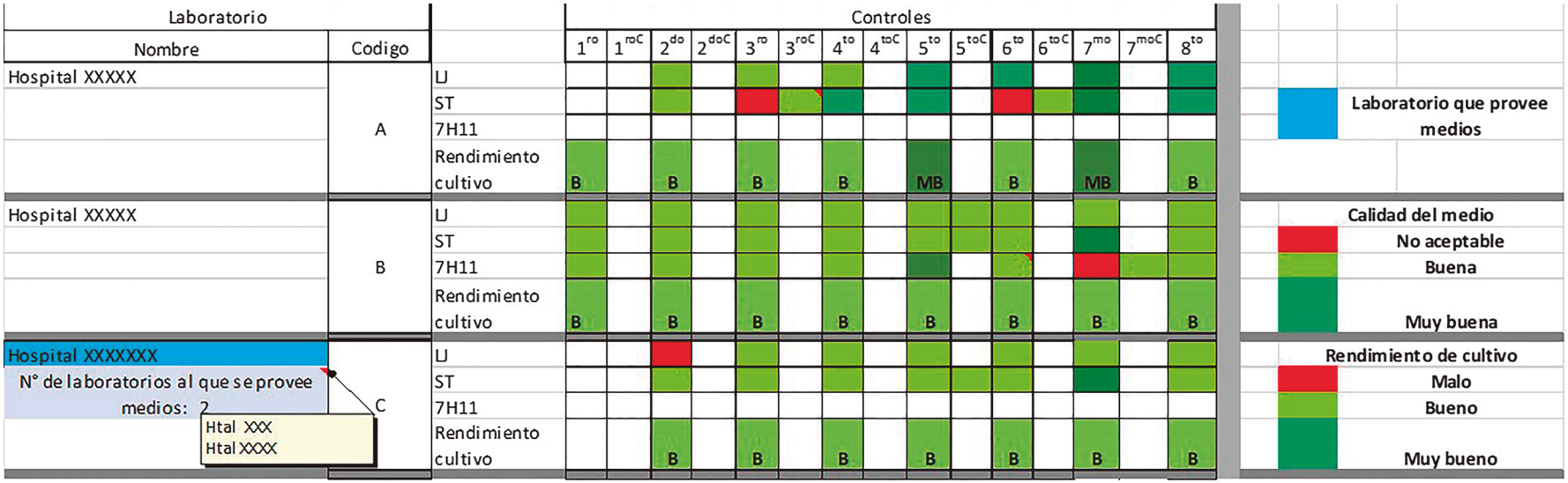
Anexo D.2. Formulario de rendimiento del cultivo

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD
														Baciloscopía (B)								Gene Xpert Rif TB (X)							
1	Laboratorio		PerÍodO	Muestras procesadas (n)	Días trabajados	Tubos sembrados totales	Muestras procesadas por día (promedio)	Tubos		Muestras				Casos						Pacientes	% Aporte al cultivo de diagnóstico	Casos						Pacientes	% Aporte al cultivo de diagnóstico
2								Tubos contaminados		Total bacteriología +		B+C+		B+ C+	B+ C nr	B- C+	B+ C-	B+ Cctdo	Bnr C+	B- C-		X+ C+	X+ Cnr	X- C+	X+ C-	X+ Cctdo	Xnr C+	B- C-	
3	Nombre	Código						n	%	n	%	n	%																
4	Hospital xxxxxxxx	c	01/09/2009 al 31/12/2009	406	85	1218	4,8	5	5,9	16	3,9	13	81,3	13	0	2	0	1	0	390	12,5	16	0	2	0	1	0	370	10,5
5							D5/E5		H5/F5 *100		J5/D5 *100		N5/J5 *100								Q5/ (N5+ P5 +Q5 +R5 +S5) *100								Y5/ (W5 +X5 +Y5+Z5+ AA5) *100
6							D6/E6		H6/F6 *100		J6/D6 *100		D6/J6 *100								Q6/ (N6+ P6 +Q6 +R6 +S6) *100								Y6/ (W6 +X6 +Y6+Z6+ AA6) *100
7																													
8																													

Los valores de esta planilla son los extraídos del Anexo D.1. Las fórmulas expresadas en las columnas son para minimizar errores y representan la combinación de distintas columnas.

Así, a modo de ejemplo, para calcular el % de tubos contaminados en la columna K, surge de la división del número de tubos contaminados registrados en la columna H y del número de tubos sembrados, registrados en la columna F, y se ha multiplicado por 100 para expresar el resultado en porcentaje. Estas fórmulas pueden ser fácilmente colocadas con una planilla de cálculo tipo Excel o similar.

Anexo D.3. Plantilla para el seguimiento del rendimiento del cultivo en relación con la calidad del medio



Los colores indican el rendimiento que tienen los laboratorios en los diferentes controles. De esta manera se puede visualizar rápidamente aquellos laboratorios que tienen inconvenientes.

En el caso de existir laboratorios que reciben medios de laboratorios elaboradores (código C en el ejemplo), es importante aclarar como comentario el número y nombre de los laboratorios a los que se les entrega medios (tal como de especifica en el cuadro celeste del ejemplo). De esta manera, siempre que se manifiesten inconvenientes en el aporte del cultivo, se facilita la asociación o descarte entre esté parámetro y la sensibilidad del medio.

Anexo D.4.Informe de indicadores de calidad del cultivo

ESTUDIO COOPERATIVO INTERLABORATORIOS 8vo control
RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS
INSTITUCION XXXXXXXXXX
AÑO XXXXXX

Cuadro 1: INDICADORES DE CALIDAD DEL CULTIVO

Laboratorios que identifican muestras para diagnóstico y siembran en medio sólido

Código de laboratorio	Período evaluado	Muestras procesadas	Muestras pulmonares bacteriológicamente positivas			Tubos contaminados	Aporte del cultivo al diagnóstico de tuberculosis	Informes remitidos a termino (MS)	Informes remitidos a termino (ML)
			Total		B+ C+				
		n	n	%	% (*)	% (**)	% (***)	%	%
C	(a)	406	16	3,9	99,0	**0,2**	12,5	92,0	
E	(a)	357	15	4,2	89,0	3,9	50,0	89,0	
E2	(a)	8	0	0,0	97,0	**12,5**	0,0	98,0	
E3	(a)	111	14	12,6	96,0	8,1	35,7	96,0	
E4	(a)	130	6	4,6	99,0	3,8	9,1	95,0	

MS: medio sólido, ML: medio líquido

(*) con relación al total de muestras pulmonares con baciloscopia positiva y/o Xpert positivo y cultivadas

(**) con relación al total de tubos sembrados

(***) con relación al total de casos de tuberculosis pulmonar diagnosticados por bacteriología (baciloscopía y/o Xpert)

(a) información correspondiente al período 01/01/2016- 31/12/2016

Anexo D.4.1 Ejemplo de resultados del rendimiento del cultivo y observaciones realizadas

CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO

ESTUDIO COOPERATIVO INTERLABORATORIOS XXXX

RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS

Institucion .....

INDICADORES DE CALIDAD DEL CULTIVO
Laboratorios que preparan medios de cultivo
Junio-Septiembre de XXXX

Laboratorios que identificaron muestras para diagnóstico y cultivan todas las muestras recibidas de sintomáticos

LABORATORIO	Muestras procesadas	Muestras pulmonares bacteriológicamente positivas			Porcentaje de contaminación	Aporte del cultivo al diagnóstico de tuberculosis	Informes remitidos a término MS
		Total		B+ C+			
CÓDIGO	n	n	%	% (*)	% (**)	% (***)	%
C	682	29	4,3	98,0	6,2	35,5	95,0
D	116	9	7,8	99,0	4,3	22,0	99,0
H	571	20	3,5	0,0	2,3	44,0	94,5
I	409	18	4,4	85,0	0,0	12,0	96,0
M	2505	159	6,3	96,0	2,4	18,3	96,0
AI	419	24	6,5	87,0	9,4	20,0	93,0
AJ	569	17	3,0	95,0	3,2	23,0	87,0
AM	434	31	7,1	97,0	2,9	38,2	96,0
AP	1677	106	3,9	99	4,5	13,0	94,0

MS: medio sólido, ML: medio líquido

(*) con relación al total de muestras pulmonares con baciloscopia positiva y/o Xpert positivo y cultivadas

(**) con relación al total de tubos sembrados

(***) con relación al total de casos de tuberculosis pulmonar diagnosticados por bacteriología (baciloscopia y/o Xpert)

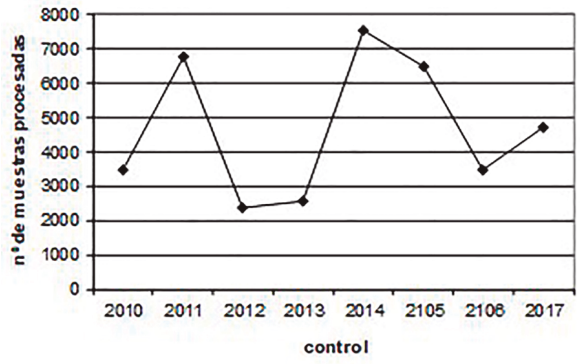
Anexo D.4.2 Ejemplo de informe de seguimiento de los parámetros del rendimiento del cultivo

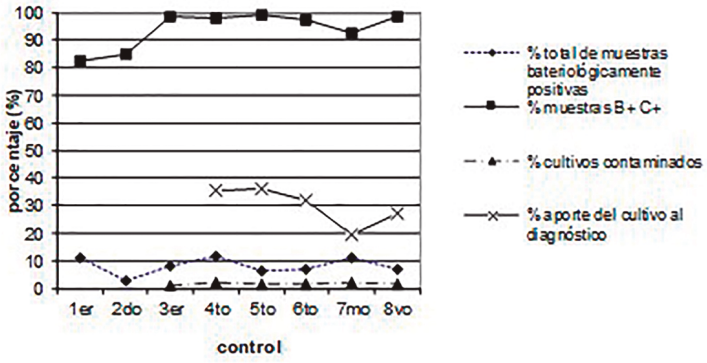
Luego del segundo o tercer año de recolección de estos datos, realizar este seguimiento e informarlo. Esto permite evaluar desvíos fortuitos o persistentes que se puedan producir por el personal del laboratorio o ajenos al mismo.

SEGUIMIENTO DE LOS INDICADORES DE CALIDAD DEL CULTIVO (2010-2016)
HOSPITAL XXXXXXXXXX

MUESTRAS PULMONARES DE PACIENTES ADULTOS PROCESADAS PARA DIAGNÓSTICO

Control	Período evaluado	Muestras procesadas			Muestras pulmonares			Porcentaje de contaminación	Aporte del cultivo al diagnóstico de tuberculosis
		en el período evaluado	por día (estimado)	por año (estimado)	Total		B+ C+		
		n	n	n	n	%	% (*)	% (**)	% (***)
1er	01/01/2010 al 31/06/2010	1735	13	3470	195	11,2	82,5		
2do	01/05/2011 al 31/08/2011	2245	26	6735	58	2,6	85,0		
3er	01/07/2012 al 31/12/2012	1176	9	2352	96	8,2	98,4	0,9	
4to	01/01/2013 al 31/04/2013	853	10	2559	97	11,7	98,1	2,1	35,3
5to	01/06/2014 al 31/09/2014	2505	28	7515	159	6,3	99,0	1,6	35,9
6to	01/05/2015 al 31/08/2015	2155	24	6465	143	6,6	97,6	1,3	31,8
7mo	01/09/2016 al 31/12/2016	1145	13	3435	128	11,2	92,6	2,3	19,1
8vo	01/09/2017 al 31/12/2017	1559	18	4677	110	7,1	98,6	1,4	27,3
Valores esperados						4 - 8 %	>= 95%	3 - 4 %	por lo menos 20%





(*) con relación al total de muestras pulmonares con baciloscopía positiva y cultivadas
(**) con relación al total de tubos sembrados
(***) con relación al total de casos de tuberculosis diagnosticados por bacteriología
sin información

Observaciones: No se han observados desvíos de los indicadores evaluados. El porcentaje de contaminación es un poco más bajo de lo normal pero no está relacionado con una baja proporción de muestras baciloscopía positiva con cultivo positivo ni está afectando al aporte del cultivo, por lo cual este parámetro no debe considerarse como anormal.

Laboratorio	Observaciones/Conclusión/Recomendaciones
C	El aporte del cultivo al diagnóstico continúa siendo muy bueno y no se llegan a detectar señales de alarma en los indicadores. Sin embargo, detectamos, entre los resultados obtenidos en junio-septiembre de xxxx con muestras de pacientes investigadas para diagnóstico, tres muestras altamente positivas por cultivo (++) que tuvieron baciloscopía negativa y otras tres muestras con baciloscopía positiva (+) que tuvieron cultivo negativo. Estas señales podrían evidenciar algún problema circunstancial en el cultivo, por lo que mantendremos la atención en ellas. Pero también podrían evidenciar algún defecto en la lectura de la baciloscopía. El Instituto no tiene registrado su participación en el control de calidad de baciloscopía durante el período analizado. Sugerimos mantener la regularidad en ese control externo.
D	Es bueno el aporte del cultivo en su rutina de trabajo y la celeridad del diagnóstico es adecuada.
H	El alto aporte del cultivo al diagnóstico de tuberculosis y, por el contrario, el bajo aporte de la baciloscopía en su rutina de trabajo puede estar evidenciando que se está investigando bacteriológicamente casos de tuberculosis pulmonar poco avanzada y no a los sintomáticos respiratorios crónicos que, con mayor frecuencia, son investigados por otros laboratorios de la red de tuberculosis. Dado que se ha implementado hace poco el diagnóstico por Xpert, se recomienda revisar posibles falsos negativos de la prueba asociados a problemas de mal funcionamiento de algunos de los módulos (ver cuadro A de las señales de alarma de pag. 59 del manual).
I	Llamamos la atención sobre los tres indicadores correspondientes al período julio-septiembre xxxx: se evidenció un nivel por debajo del indicado en todos. Dado que se observa una disminución en los tres indicadores a la vez, se recomienda revisar en particular el punto F del cuadro de señales de alarma de la pag 59 del manual. Lo más probable es que la decontaminación que se está aplicando a las muestras sea demasiado enérgica. Igualmente revisar también los puntos G y H para descartar alguna otra causa. Por otra parte, llamamos la atención sobre una muestra altamente positiva por cultivo (++) con baciloscopía negativa, caso en el que muy probablemente podría haber sido diagnosticado rápidamente por baciloscopía. Sugerimos revisar la técnica de la baciloscopía atendiendo a las observaciones del Instituto.
M	El aporte del cultivo al diagnóstico de tuberculosis es bueno. Llamamos la atención sobre una muestra pulmonar de un paciente investigado para diagnóstico altamente positiva por cultivo (++) que tuvo baciloscopía negativa en el período junio-septiembre XXXX. Sugerimos investigar la posible causa de este resultado y revisar el frotis correspondiente a esa muestra.
AI	Es bueno el aporte del cultivo en la rutina de trabajo. Mantener bajo monitoreo el porcentaje de cultivos contaminados dado que está un poco elevado. Se recomienda revisar los puntos C, D y E de las señales de alarma de la pag 59 del manual. Dado que los valores no son ecesivamente altos se recomienda analizar el porcentaje de contaminación según los lugares de donde provienen las muestras de manera tal de poder evidenciar algun inconvenintee relacionado con el transporte de las muestras.
AJ	Es bueno el aporte del cultivo en la rutina de trabajo. El agregado de Stonebrink puede ser beneficioso para aumentar la sensibilidad del cultivo. La combinación de medios no sólo facilita el desarrollo de algunas cepas que tienen requerimientos particulares sino que, además, minimiza el riesgo de falsos resultados negativos en el cultivo originados por algún lote de medio que puede ser defectuoso. Tratar de mejorar el tiempo de respuesta a los laboratorios (si se trata de falta de personal o sólo es un incoveniente administrativo)
AM	Su laboratorio mantiene buena calidad de cultivo evidenciada tanto por la buena calidad de los medios como por el buen rendimiento de la técnica para el diagnóstico de tuberculosis en pediatría. Se valora la implementación del sistema de biología molecular (Xpert) en su Institución. Llamamos la atención sobre dos muestras pulmonares de dos casos investigados para diagnóstico durante el período junio-septiembre de 2016, Xpert positivo (alta señal) y cultivo negativo. Sugerimos revisar si se trata de un paciente en tratamiento.
AP	Su laboratorio evidenció bajo aporte de cultivo para la población y la prevalencia que se maneja en su área. Además, la metodología que está usando (baciloscopía) no tiende a bajar la eficiencia del cultivo. No se observó desvíos con los valores de los otros dos indicadores por lo cual se recomienda revisar el punto B del cuadro de señales de alarma de la pag. 59 del manual.

Anexo D.5. Formulario Cultivo-Elaborador de medios

Este formulario se utiliza para recolectar la información de aquellos laboratorios que son productores de medios de cultivo para uso propio o de la red.

CONTROL DE CALIDAD INTERLABORATORIOS DE CULTIVO
EMPLEADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS
Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis

Tome al azar **12** tubos de cada lote de medios preparados en su laboratorio. Rotúlelos, acondiciónelos en una caja protegiéndolos de roturas. Esta muestra de medios de cultivos deberá ser enviada antes del **XX/XX/20XX,** acompañada de la información solicitada en el formulario A, a la siguiente dirección:

Consignar el nombre del laboratorio e Institución que organiza el control, su dirección, Tel/Fax y Correo electrónico

Información sobre el laboratorio productor

¿Provee a algún laboratorio? si ☐ no ☐
En caso afirmativo:
¿A cuál (es)? .....
.....

¿Dejó de proveer medio de cultivo a algún laboratorio de la red durante los dos últimos años?

si ☐ no ☐

En caso afirmativo:
¿A cuál(es)? .....

¿Por qué razón?.....
.....

Medio enviado para control	**Lote nº**	**Fecha de preparación**
Löwenstein Jensen		
Stonebrink		
Middelbrook 7H10		
Middelbrook 7H11		

¿Prepara otro tipo de medio que no envió para control?

si ☐ no ☐

¿Cuál?.....
.....

A- METODOLOGÍA APLICADA EN LA ELABORACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO:

A.1.Indique la marca de los productos utilizados para elaborar el medio del cual se envía una muestra:

Drogas	**Marca**	**Lote n º**	**Fecha vencimiento**
Medio comercial envasado en tubos (listo para usar)			
Base comercial			
Prepara el medio con:			
Fosfato monopotásico			
Sulfato de magnesio			
Citrato de magnesio			
L-asparagina			
Glicerina			
Verde de malaquita			
Piruvato de sodio			
Fosfato disódico			

A.2. .¿Dónde coagula el medio a base de huevos? coagulador ☐ estufa ☐ autoclave ☐

Otros (describa): .....
Tiempo y temperatura de coagulación: .....

A.3. ¿Controla la temperatura del equipo que emplea para coagular durante el proceso?

si ☐ no ☐

En caso afirmativo, ¿la registra en una planilla? si ☐ no ☐

A.4. ¿De qué forma conserva los medios preparados?

Temperatura ambiente ☐ Refrigerador ☐ Estufa ☐ Freezer ☐

¿Cuánto tiempo, en promedio, conserva los medios después de preparados? .....
.....

A.5. ¿Qué controles de calidad realiza a cada lote de medio de cultivo que prepara?
Desarrollo ☐ Esterilidad ☐ Sensibilidad ☐ Consistencia ☐

Especifique como lo/s realiza
.....
.....
.....
.....
.....

A.6. Detalle todos los lotes de medio preparados durante el **20XX** en el siguiente cuadro

Löwenstein Jensen neutro			Stonebrink neutro					
Lote	Fecha de preparación	Volumen ml	Lote	Fecha de preparación	Volumen ml	Lote	Fecha de preparación	Volumen ml

Firma:..... Aclaración:.....

Anexo D.6.Preparación de alícuotas para el inóculo

1- Tomar la cepa de referencia de *M. tuberculosis* y *M. bovis* sensible a las drogas.

2- Rotular con el nombre y/o número de la cepa o aislamiento el frasco o tubo con perlas de vidrio.

3- Con un asa bacteriológica descartable, raspar toda la superficie con desarrollo bacteriano, evitando tomar medio de cultivo. En caso de utilizar asa no descartable, enfriar la misma antes de levantar la masa bacilar (el asa caliente mata a todos los microorganismos).

4- Descargar toda la masa bacilar dentro del tubo con perlas de vidrio, realizando movimientos giratorios del asa sobre las perlas.

5- Agregar 1 o 2 gotas de agua destilada estéril, tapar y agitar con vortex por 1 minuto; dejar reposar 5 minutos para que bajen los aerosoles posiblemente formados.

6- Agregar aproximadamente 1 o 2 ml de agua estéril y volver a agitar con vortex por 1 minuto.

7- Dejar la suspensión en reposo por 15 minutos.

8- Con una pipeta Pasteur, transferir el sobrenadante a del tubo con perlas a un nuevo tubo con tapa a rosca, cuidando de no agitar el sedimento.

9- Agregar de a poco el agua destilada estéril hasta lograr igualar la turbidez de una suspensión McFarland 1.

10- Distribuir 0,5 ml de esta suspensión en tubos de 2ml de plástico con rosca externa.

11- Congelar a -70°C hasta que se necesite preparar un nuevo inóculo.

Anexo D.7.Preparación del inóculo para el control

1- Descongelar una de las alícuotas de *M. tuberculosis* y/o *M. bovis* preparadas como se describe en el anexo D.6.

2- Realizar un subcultivo con la cepa *M. tuberculosis* en LJ y/o la cepa *M. bovis* en Stonebrink según sea el medio a evaluar.

3- Incubar a 37°C y cosechar en etapa exponencial de desarrollo (aproximadamente a los 15 - 20 días). Los cultivos muy jóvenes o viejos pueden dar resultados variables.

4- Rotular con el nombre y/o número de la cepa o aislamiento un frasco o tubo con perlas de vidrio.

5- Con un asa bacteriológica raspar toda la superficie con desarrollo bacteriano, evitando tomar medio de cultivo. En caso de utilizar asa no descartable, enfriar la misma antes de levantar la masa bacilar (el asa caliente mata a las micobacterias).

6- Descargar toda la masa bacilar dentro del tubo con perlas de vidrio, realizando movimientos giratorios del asa sobre las perlas.

7- Agregar 1 o 2 gotas de agua estéril, tapar y agitar con vortex por 1 minuto; dejar reposar 2 o 3 minutos para que bajen los posibles aerosoles formados.

8- Agregar aproximadamente 1 ml de agua estéril y volver a agitar con vortex por 1 minuto.

9- Dejar la suspensión en reposo por 15 minutos.

10- Con una pipeta Pasteur descartable, transferir el sobrenadante del tubo con perlas a un nuevo tubo con tapa a rosca, cuidando de no agitar el sedimento.

11- Agregar de a poco el agua destilada estéril hasta lograr igualar la turbidez de una suspensión McFarland 1 o la de 1mg/ml de M. bovis BCG medir la densidad óptica. También se puede usar el espectrofotómetro, leyendo a 400 nm, la DO de la suspensión.

12- Con micropipeta o pipeta transferir 100 µl de la suspensión a un tubo con 9,9 ml de agua destilada (dilución 1:100 10 -2).

13- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10- 2 a un tubo con 9 ml de agua destilada estéril (dilución 1: 1000-10-3)

14- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10- 3a un tubo con 9 ml de agua destilada estéril (dilución 1: 10000-10-4)

15- Con micropipeta o pipeta transferir 1ml de la suspensión 10- 4a un tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1: 100000-10- 5).

16- Sembrar con pipeta calibrada 100 µl por tubo en al menos 2 tubos para cada dilución, de las dil 10 -3, 10 -4 y 10 -5.

17- Incubar por 60 días a 37°C y realizar el conteo de UFC a los 20 y 60 días

18- Registrar en la planilla presentada en el anexo 8.

19- Definir la dilución óptima para la experiencia. La misma debe permitir obtener 20-50 UFC en el volumen a sembrar por tubo. Se requiere, por lo general, una dilución cercana a 1/5000, partiendo de una suspensión con turbidez igualada al N°1 de McFarland.

Anexo D.8. Ensayo del inóculo. Registro de conteo de colonias

	Lectura 20 días											
	LJ (*M tuberculosis*)						ST (*M bovis*)					
	TUBO					Promedio de colonias	TUBO					Promedio de colonias
Diluciones	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5	
-2												
-3	250	>200	>250	>250	>200	>200	123	156	140	220	214	170,6
-4	18	36	22	45	30	30,2	37	24	43	35	31	34
-5	6	0	1	1	3	2,2	1	4	5	5	8	4,6
	Lectura 60 días											
	LJ (*M tuberculosis*)						ST (*M bovis*)					
	TUBO					Promedio de colonias	TUBO					Promedio de colonias
Diluciones	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5	
-2												
-3	>200	>200	>200	>200	220	>200	216	153	142	233	170	182,8
-4	19	37	43	46	32	35,4	44	24	45	35	31	35,8
-5	6	0	0	1	1	1,6	1	6	5	4	8	4,8

Anexo D.9. Cuantificación del inóculo, monitoreo de resultados

		Inóculo						Dilucion final del inóculo	Desarrollo UFC (media)	
		lectura (días)								
Año de la experiencia	Medio	H37Rv o aislamiento sensible	AN5 o aislamiento sensible	Inicial	1a dil	2da dil	3a dil		1er control	2do control
2015	LJ	20		MF#1	1/1000	1:5		1:5000	72	57
	ST		20	MF#1	1/1000	1:3		1:3000	65	79
2016	LJ	22		DO 0.24 (MF#1 400nm)	1/1000	1:4		1:4000	86	90
	ST		21	DO 0.24 (MF#1 400nm)	1/1000	1:4		1:4000	80	85
2017	LJ	15- 19 (1ero , 2do control)		DO 0.24 (MF#1 400nm)	1/1000	1:4		1:4000	125	97
	ST	15- 19 (1ero , 2do control)	15	DO 0.24 (MF#1 400nm)	1/1000	1:4		1:4000	82	75

LJ: Lowenstein Jensen, ST: Stonebrink

Anexo D.10. Formulario de registro de datos

Este registro es sólo una guía que puede ser modificada según las características de cada red. Se recomienda utilizar Excel y colocar en una misma solapa ambas partes de manera de visualizar todos los campos en una misma planilla.

Parte 1. Información del laboratorio que envía los medios

Laboratorio a evaluar							Invitación		Tipo de establecimiento		
Código asignado	Jefe a cargo	Institución	Servicio	Ciudad	Provincia	e-mail	Envió e-mail	Recibió e-mail	Público	Privado	Empresa

Parte 2. Información de los medios enviados para el control

Fecha arribo medio y planilla	LJ	ST	7H11	Medio Base Comercial	Medio listo para usar	Marca	Lote y vencimiento	Medio Lowenstein-Jensen			Medio Stonebrink			Medio Middlebrook 7H11			Observaciones
								Lote Nº	Fecha de Preparación	Resultado	Lote Nº	Fecha de Preparación	Resultado	Lote Nº	Fecha de Preparación	Resultado	

Completar con la información recibida de cada laboratorio.

Anexo D.11. Formulario para la asignación de números al azar a los tubos recibidos para el control de calidad

Codigos		Contaminados		
		LJ	ST	7H11
Lab/Medio				
5				
13				
265				
35				
7				
70				
23				
1				
600				
345				
44	ph			
12	reserva			
Lab/Medio				
11				
9				
117				
295				
45				
367				
452				
78				
98				
52				
25	ph			
557	reserva			

Anexo D.12: Formulario con el listado de tubos a controlar de medio LJ

Lista de números Medio LJ				
1	181			
5	182			
8	183			
9	184			
11	189			
13	190			
24	193			
27	194			
31	195			
32	197			
35	217			
37	222			
42	224			
49	236			
59	238			
60	241			
65	253			
66	254			
70	258			
74	262			
77	265			
79	267			
81	268			
85	272			
86	275			
89	277			
91	285			

Anexo D.13. Características del medio recibido de los laboratorios participantes

LABORATORIO			CARACTERISTICAS DEL MEDIO				TUBO	
NOMBRE	CODIGO	Lote N°	pH	Color	Homogeneidad	Observaciones	Tamaño	Tapa
XXXXX	A	1122	7,7	Vc	Color homogéneo	muy claro	16 * 150	Rosca

Anexo D.14. Preparación del inóculo para el control

Recordar que se debe trabajar con condiciones de bioseguridad recomendadas para la manipulación de altas cargas bacilares

1- Descongelar una de las alícuotas de *M. tuberculosis* y/o *M. bovis* preparadas en el Anexo D. 6.

2- Realizar un subcultivo con la cepa *M. tuberculosis* en LJ y/o la cepa *M. bovis* en Stonebrink según sea el medio a evaluar.

3- Incubar a 37°C y cosechar en etapa exponencial de desarrollo (aproximadamente a los 15 - 20 días). Los cultivos muy jóvenes o viejos pueden dar resultados variables.

4- Rotular con el nombre y/o número de la cepa o aislamiento un frasco o tubo con perlas de vidrio.

5- Con un asa bacteriológica raspar toda la superficie con desarrollo bacteriano, evitando tomar medio de cultivo. En caso de utilizar asa no descartable, enfriar la misma antes de levantar la masa bacilar (el asa caliente mata a las micobacterias).

6- Descargar toda la masa bacilar dentro del tubo con perlas de vidrio, realizando movimientos giratorios del asa sobre las perlas.

7- Agregar 1 o 2 gotas de agua estéril, tapar y agitar con vortex por 1 minuto; dejar reposar 2 o 3 minutos para que bajen los posibles aerosoles formados.

8- Agregar aproximadamente 1 ml de agua estéril y volver a agitar con vortex por 1 minuto.

9- Dejar la suspensión en reposo por 15 minutos.

10- Con una pipeta Pasteur descartable, transferir el sobrenadante del tubo con perlas a un nuevo tubo con tapa a rosca, cuidando de no agitar el sedimento.

11- Agregar de a poco el agua destilada estéril hasta lograr igualar la turbidez de una suspensión McFarland 1 o la de 1mg/ml de *M. bovis* BCG medir la densidad óptica. También se puede usar el espectrofotómetro, leyendo a 400 nm, la DO de la suspensión.

12- Con micropipeta o pipeta transferir 100 µl de la suspensión a un tubo con 9,9 ml de agua destilada (dilución 1:100 10 -2).

13- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10- 2 a un tubo con 9 ml de agua destilada estéril (dilución 1: 1000-10-3)

14- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10- 3a un tubo con 9 ml de agua destilada estéril (dilución 1: 10000-10-4)

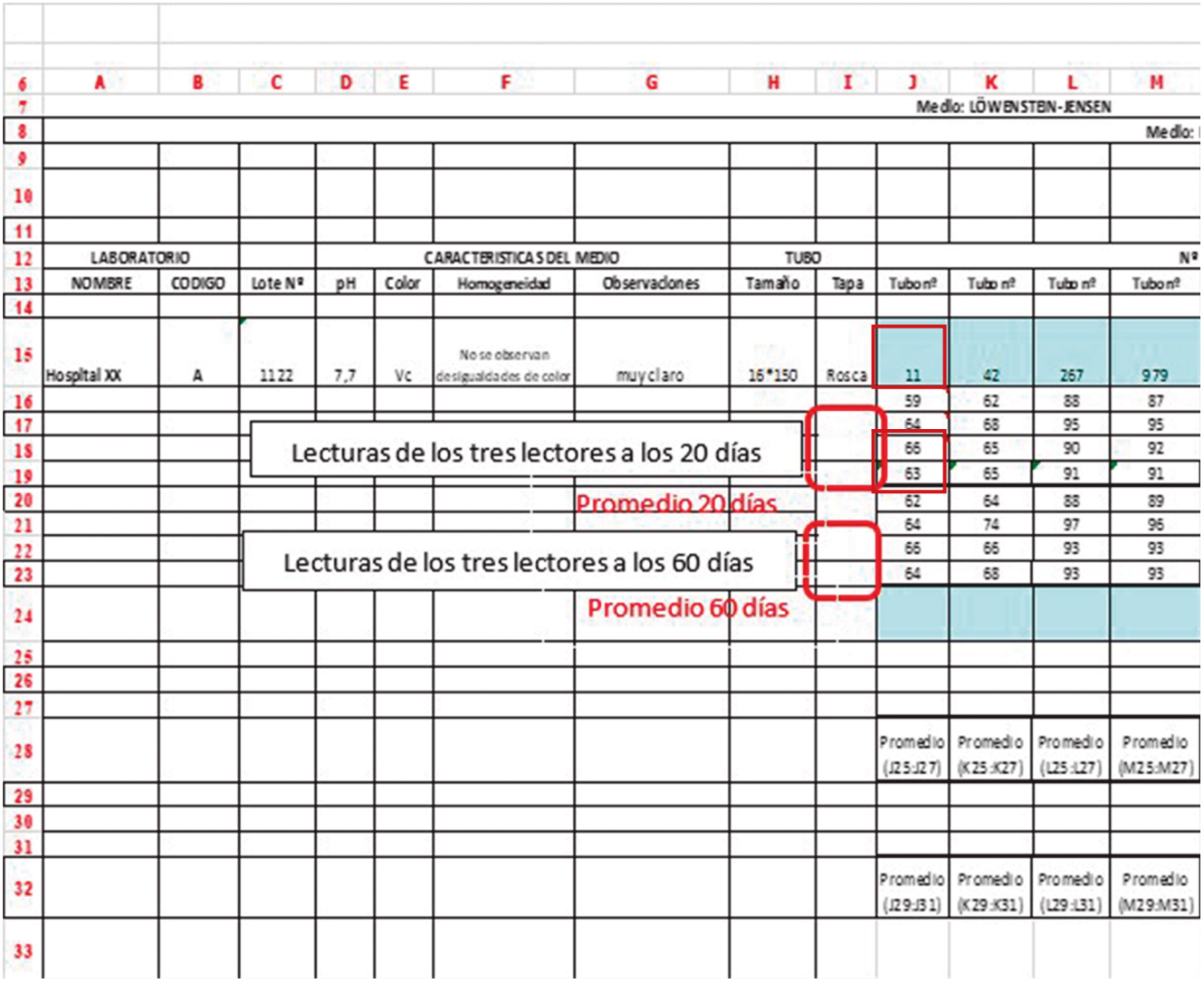
15- Con micropipeta o pipeta transferir 1ml de la suspensión 10- 4a un tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1: 100000-10- 5).

16- Elegir la dilución óptima de las experiencias previas de manera tal de obtener 20-50 UFC en el volumen a sembrar por tubo.

Anexo D.15. Formulario para el conteo de colonias

Lowenstein Jensen neutro (lectura días)					
Fecha de siembra 29/06/2010			Fecha de lectura:		
Lectura realizada por:					
Tubo n°	Lectura	Observaciones	Tubo n°	Lectura	Observaciones
1			181		
5			182		
8			183		
9			184		
11			189		
13			190		
24			193		
27			194		
31			195		
32			197		
35			217		
37			222		
42			224		
49			236		
59			238		
60			241		
65			253		
66			254		
70			258		
74			262		
77			265		
79			267		
81			268		
85			272		
86			275		

Anexo D.16. Formulario para la transcripción de las características del medio, conteo de colonias y análisis de resultados



Esta planilla tiende a simplificar los cálculos. En la misma se expresan las fórmulas que se deberán introducir para cada cálculo teniendo en cuenta las columnas y filas que deben estar implicadas y combinadas. (No olvidar que la fórmula en Excel lleva adelante el signo =). Se recomienda realizar la introducción de todas las fórmulas y una vez confeccionada la planilla incorporar los datos de las lecturas de conteo de colonias.

CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO XXXX

INSTITUTO XXXXXXXXXXXXXX

Inóculo: Suspensión acuosa de *Mycobacterium tuberculosis* H37 Rv

LOWENSTEIN-JENSEN

N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y
						DESARROLLO					
						PROMEDIO DE COLONIAS POR TUBO		DS 60 días	SENSIBILIDAD	PORCENTAJE DE DESARROLLO A LOS 20 DÍAS	CARACTERISTICAS PECULIARES DE LAS COLONIAS
DE COLONIAS LECTURA 20/60 DIAS						20 DIAS	60 DIAS				
Tubo nº	Tubo nº	Tubo nº	Tubo nº	Tubo nº	Tubo nº	A	B		(*)	A/B x100	
511	60	972	1089	265	491	77,8	79,8		Muy buena	97,5	
76	77	65	82	75	75						
85	85	76	82	75	84						
81	86	77	85	73	63						
81	83	73	83	74	74						
77	77	69	82	78	79						
88	87	80	82	79	88						
82	88	79	88	73	65						
82	84	76	84	77	77						
						Promedio (J28:S28)	Promedio (J32:S32)	DESVEST (J32:S32)	Buena	T24/U24*100	
Promedio (N25:N27)	Promedio (O25:O27)	Promedio (P25:P27)	Promedio (Q25:Q27)	Promedio (R25:R27)	Promedio (S25:S27)						
Promedio (N29:N31)	Promedio (O29:O31)	Promedio (P29:P31)	Promedio (Q29:Q31)	Promedio (R29:R31)	Promedio (S29:S31)						
			Media			Promedio (T15:T24)	Promedio (U15:U24)				

Respecto al lote en particular

Respecto a todos los lotes

Anexo D.17.Informe preliminar de resultados de medios

Ciudad, xxxx de xxxxx de xxxx

«Nombre»
«Cargo»
«Institución»
«Dirección»
«Ciudad»«Código_postal»
«Provincia»
« E-mail laboral»

De nuestra mayor consideración:

Anticipamos la sensibilidad alcanzada por los lotes enviados por vuestro laboratorio para el Control de Calidad de Medios de Cultivo realizado el xxxxx.

Medio	Lote	Sensibilidad
Löwenstein Jensen	«LLJ»	«RLJ»
Stonebrink	«LST»	«RST»

Como en experiencias anteriores, hemos categorizado a la sensibilidad de la siguiente forma

Muy buena: número de colonias superior a la media más un desvío estándar,
Buena: número de colonias entre la media más/menos un desvío estándar
No aceptable: número de colonias inferior a la media más un desvío estándar

Más adelante, enviaremos por correo la información completa correspondiente a esta experiencia de control de calidad, con detalle y comparación del desarrollo producido por el conjunto de lotes controlados y las observaciones que surjan de la información recibida de los laboratorios participantes. Estamos completando el análisis.

Queremos agradecerle el esfuerzo por participar y saludarlo afectuosamente.

Firma .....

Hoja 1/1

Anexo D.18.Informe final de resultados de medios

Ciudad,XX de XXXXX de XXXX

«Nombre»
«Cargo»
«Institución»
«Dirección»
«Código_postal»«Ciudad»
«Provincia»

De nuestra mayor consideración:

Completando el informe que enviamos el xx/xx/xx, adjuntamos el análisis completo de la xx experiencia del Control de Calidad de Medios de Cultivo para el Diagnóstico de Tuberculosis.

Su laboratorio tiene asignado el código: «Código_de_laboratorio»

Agradecemos su participación y estamos a su disposición para brindar mayor información o resolver inquietudes que surjan del análisis de los resultados adjuntos.

Firma .....

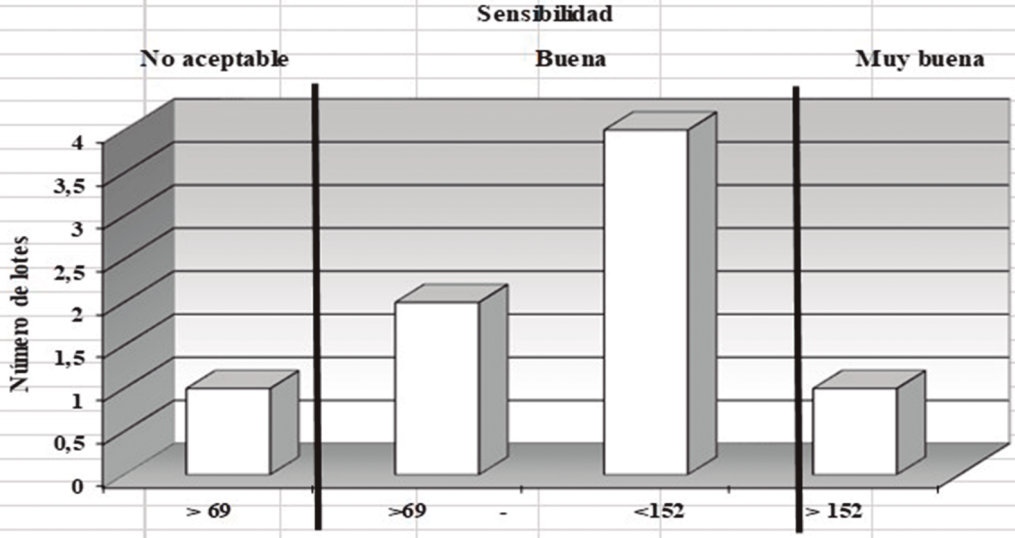
Anexo D.19. Datos a informar junto al informe final

CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO
ESTUDIO COOPERATIVO INTERLABORATORIOS 8vo control
RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE TUBERCULOSIS
INSTITUTO NACIONAL XXXXXXXXXX

Medio: Lowenstein Jensen **Inóculo: Suspensión de *Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Rv$**

CODIGO DE LABORATORIO	CARACTERISTICAS DEL MEDIO		TUBO		DESARROLLO PROMEDIO DE COLONIAS POR TUBO	SENSIBILIDAD (*)
	Lote N°	pH	Tamaño	Tapa		
A	1122	7,7	17x180	Rosca	172,9	Muy buena
C	8	7,5	15X150	Rosca	122,8	Buena
E	38	7,5	15x150	Rosca	135,2	Buena
F	19	7,8	17x180	Algodón	138,6	Buena
G	13	7,7	15x150	Algodón	108,7	Buena
H	01/10	7.9	17x110	Rosca	89.9	Buena
R	no informado	8,1	16x115	Rosca	41,5	No aceptable
S	5	7,2	16x110	Rosca	75,0	Buena

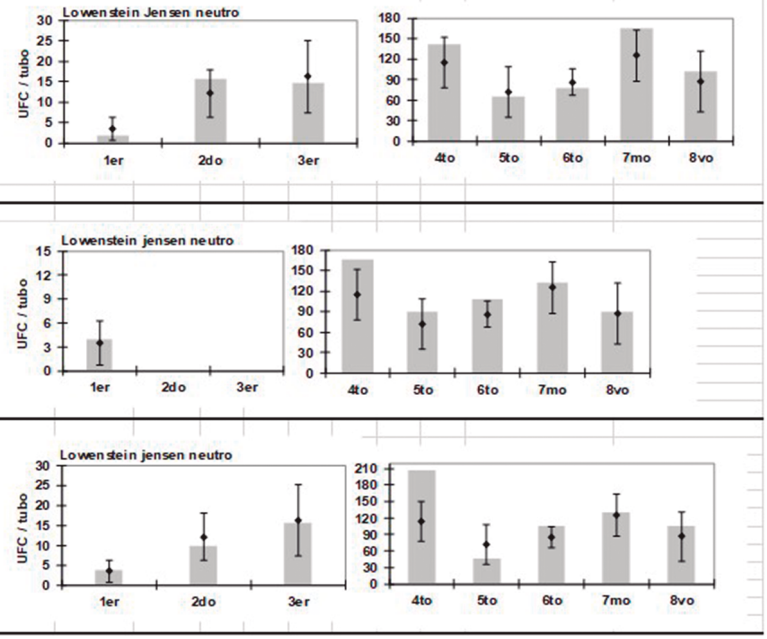
Media	110,6
Desvio estandar	41,2
Media + 1 DS	151,8
Media -1DS	69,4



(*) Buena = media +/- desvío estándar
Muy buena > media + desvío estándar
No aceptable < media - desvío estándar

Anexo D.20.Seguimiento de la calidad del medio de cultivo

Laboratorio	Código	LOWENSTEIN JENSEN NEUTRO							
		1er	2do	3er	4to	5to	6to	7mo	8vo
		1,9	15,6	14,5	141	64,1	76,8	164,8	101,1
		3,5	12,1	16,2	114	71,6	85,8	125	86,7
Hospital XXXX	AF	2,8	5,8	8,9	36,6	36,7	19,3	37,8	45
		1er	2do	3er	4to	5to	6to	7mo	8vo
		4			166	89,4	108	132,7	89,9
		3,5			114	71,6	85,8	125	86,7
Hospital XXXXXX	H	2,8			36,6	36,7	19,3	37,8	45
		1er	2do	3er	4to	5to	6to	7mo	8vo
		3,8	9,7	15,6	207	45,4	104,4	129,8	105,9
		3,5	12,1	16,2	114	71,57	85,8	125	86,7
Hospital XXXXXX	I	2,8	5,8	8,9	36,6	36,73	19,3	37,8	45



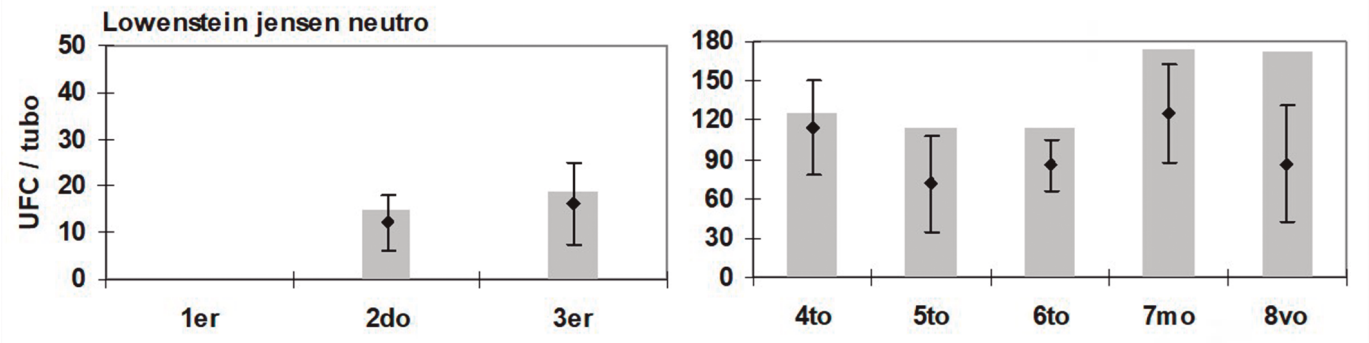
Anexo D.21.Informe del seguimiento de la calidad del medio

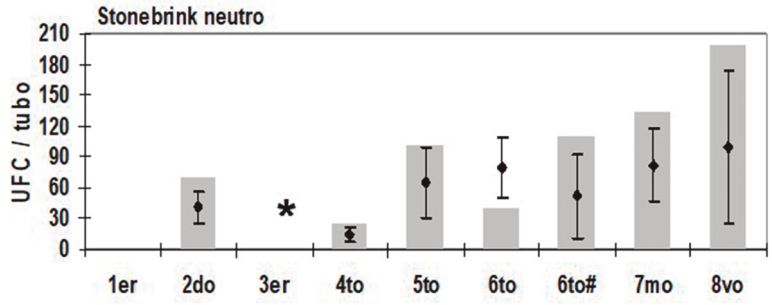
SEGUIMIENTO DE LA CALIDAD DEL MEDIO DE CULTIVO

(2do al 8vo Control del Programa de Garantía de Calidad de la Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis, años ..... a .....)

Nombre laboratorio

Calidad del medio de cultivo sólido





No participó del 1er control

REFERENCIAS

media +/ - desvío estándar de todos los lotes probados

valor alcanzado por el laboratorio

UFC/tubo colonias por tubo

* **noenvió muestra**

#2da vuelta

ANEXO E -PRUEBAS DE SENSIBILIDAD FENOTIPICAS

Anexo E.1. Carta preliminar

Ref: Control de calidad de pruebas de sensibilidad
a drogas antituberculosis

Lugar, xx de xxxxxx de xxxx

Estimada/o
Estamos organizando el control de calidad de pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosis de este año. Con el fin de coordinar la entrega del adecuado número de paneles necesitamos por favor nos comunique por nota firmada, vía correo electrónico o fax lo siguiente:

1- el o los métodos actualmente empleados a partir de muestras o aislamientos para producir informes clínicos en su laboratorio.
2- drogas ensayadas en los respectivos métodos.
3- el o los métodos que está validando actualmente.
4- fecha de la última verificación del funcionamiento de la cabina de seguridad en la cual realiza las pruebas de sensibilidad, y periodicidad con la que es efectuada.
5- modelo y clasificación (clase y tipo), de la cabina de seguridad que emplea para la realización de las pruebas de sensibilidad en su laboratorio.

Si vuestro laboratorio por alguna razón no puede participar de esta experiencia interlaboratorios, rogamos nos lo informe para intentar juntos resolver el problema y evitar el envío innecesario de material biológico de alto riesgo.

Sin otro particular, saludamos a Usted muy atentamente.

Anexo E.2. Formulario con la codificación de aislamientos por panel

Código del aislamiento		Labotorio XXX							Laboratorio XXXXX				PANEL N°						Laboratorio XXXXXXXXX						Comtaminado	No viable
OMS	LSN o LRN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1A	161	1	115	215	342	404	670	669	943	534	58	3	63	547	861	177	384	685	721	873	936	479	724	878	981		
1B	297	314	775	892	68	294	917	834	638	119	137	546	1058	895	1048	591	101	23	2	979	9	886	1079	176	272		
2A	318	198	258	370	371	372	438	467	730	889	1089	662	980	381	653	432	103	41	924	966	729	535	190	596	230		
2B	336	461	800	903	321	817	336	244	296	456	69	140	376	379	687	840	1025	1028	1069	557	1043	32	902	124	827		
3A	396	602	319	270	507	941	167	921	420	134	85	264	304	912	354	842	219	300	302	951	353	600	645	953	166		
3B	752	180	867	676	536	553	389	770	616	720	874	148	659	660	24	1063	98	152	274	640	624	464	162	899	982		
4A	960	183	358	359	284	815	816	798	178	56	174	1003	1004	185	615	809	920	213	201	714	1057	612	480	663	20		
4B	1084	136	182	288	343	375	523	865	962	991	1006	365	323	802	803	970	900	993	83	236	366	831	1026	728	871		
5A	1271	227	114	256	499	1046	250	5	47	309	298	59	120	286	340	779	541	764	36	38	470	92	193	506	228	1	
5B	1273	1082	232	1014	617	105	172	413	574	594	229	76	1064	253	262	402	424	118	186	436	870	1018	1065	517	634		1
6A	1371	100	110	415	618	235	708	838	630	718	704	411	494	851	945	691	66	31	559	614	998	67	224	341	938		
6B	1525	760	893	910	918	950	858	793	952	210	290	516	768	531	558	628	786	949	715	417	442	398	514	160	248	1	
7A	2015	629	475	632	315	39	556	1005	1100	410	554	555	837	709	710	657	212	647	14	37	60	181	444	455	855		
7B	2197	586	246	688	95	233	1038	719	331	996	109	223	386	648	679	1002	1031	1088	1091	267	269	930	1062	414	707		
8A	2669	77	542	405	940	142	422	433	268	508	567	771	868	773	758	759	828	135	983	830	459	195	988	78	238		
8B	5682	113	1036	774	560	62	43	750	931	1013	761	735	841	188	25	672	332	418	577	1040	394	29	489	588	880		
9A	5879	668	35	1032	825	8	490	592	905	907	923	999	396	132	328	1007	1008	453	528	214	545	835	16	72	678		
9B	7066	582	733	778	790	584	1054	807	564	485	133	231	156	237	665	578	677	848	904	888	570	664	667	784	785		
10A	7313	1074	82	967	312	530	122	539	580	55	844	984	887	1021	987	1012	562	563	7	922	963	603	87	202	407	1	
10B	7623	301	139	824	891	906	241	265	1086	525	652	876	1023	605	75	747	748	1030	498	121	864	510	989	361	171		
11	8448	597	1041	726	477	345	346	357	971	839	303	452	731	1072	755	1017	15	573	80	400	428	697	866	287	385		
12	8563	495	382	610	28	161	337	151	373	928	266	601	959	316	969	1070	734	780	199	973	974	944	1083	964	933		
13	8936	307	751	1095	397	1085	12	458	504	692	808	810	934	1059	568	483	111	631	533	972	1035	421	976	1045	651	1	
14	8976	81	468	609	749	79	843	846	776	13	104	194	702	278	445	625	957	656	644	295	538	293	392	524	1024		
15	9263	860	954	548	769	654	242	116	11	123	61	703	585	717	727	1099	217	511	799	44	1096	519	65	239	317		
16	9386	1019	1092	1094	71	205	518	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	814	566	869	1090	88	255	383	619	1	1
17	9608	10	292	329	348	349	350	351	352	509	990	52	543	863	753	425	403	207	772	791	1037	689	992	74	64		
18	9727	537	1071	259	606	225	797	1087	680	681	700	1011	216	551	448	125	1093	757	463	427	901	437	633	434	716		
19	9743	325	150	762	804	699	598	622	1009	157	472	247	285	55	471	968	320	859	393	590	243	639	796	705	46		1
20	9815	997	305	935	829	289	549	412	189	419	766	795	937	1010	48	222	324	505	725	792	896	1001	1027	1049	915		

Anexo E.3. Información solicitada para control de prueba de sensibilidad

Control de Calidad Pruebas de Sensibilidad de Mycobacterium tuberculosis
Estudio Cooperativo Interlaboratorios- Red Latinoamericana de Laboratorios de Tuberculosis.

- En cuanto se reciben repicar las cepas en dos tubos Löwenstein Jensen (LJ) sembrando en cada uno 0,3 ml de la suspensión enviada.
- Incubar hasta detectar desarrollo abundante. Verificar siempre que haya al menos 20 colonias. Si fuera necesario para reunir 20 colonias, trabajar con los dos tubos repicados. Como excepción, siempre es posible volver a repicar a partir de la suspensión enviada. No vuelva a repicar los tubos de LJ (para evitar trabajar con una selección de clones).
- Realice la prueba de sensibilidad a partir de los repiques en LJ de acuerdo al método de rutina que se utiliza en su laboratorio.
- Complete el formulario adjunto con los resultados y la información solicitada y envíelo por correo postal a:

Institución, E-mail/tel: correo electrónico a:

Laboratorio participante:

Método empleado:
Resultados de las pruebas de sensibilidad a drogas de 1º línea (marque con una cruz):

Aislamiento	Isoniacida		Rifampicina		Etambutol		Pirazinamida Método: Conc.:	
	S	R	S	R	S	R	S	R
24								
32								
61								
135								
164								
198								
239								
240								
264								
266								
342								
348								
358								
417								
522								
541								
543								
571								
647								
655								
677								
738								
771								
778								
845								
870								
880								
1021								
1027								
1088								

S: Sensible **R:** Resistente

Si no realizó alguna prueba o no pudo interpretar algún resultado indique aquí la causa:

Método empleado:
Resultados de las pruebas de sensibilidad a drogas de 2º línea (marque con una cruz)

Aislamiento	Quinolona (*)		Kanamicina		Amicacina		Capreomicina	
	S	R	S	R	S	R	S	R
24								
32								
61								
135								
164								
198								
239								
240								
264								
266								
342								
348								
358								
417								
522								
541								
543								
571								
647								
655								
677								
738								
771								
778								
845								
870								
880								
1021								
1027								
1088								

S: Sensible **R:** Resistente **(*)** Aclarar la droga que se está evaluando

Si no realizó alguna prueba o no pudo interpretar algún resultado indique aquí la causa:

RUTINA DE TRABAJO

1. Tomando en cuenta **todos los métodos que utiliza para originar informes clínicos,** complete el siguiente cuadro:

Nº de CASOS a cuyo aislamiento se le realizó prueba de sensibilidad	**Año**
	XXXX
sin tratamiento previo **totales**	
sin tratamiento previo multirresistentes	
sin tratamiento previo extremadamente resistentes	
con tratamiento previo **totales**	
con tratamiento previo multirresistentes	
con tratamiento previo extremadamente resistentes	
totales sin información con respecto al tratamiento	
multirresistentes sin información con respecto al tratamiento	
Nº de PRUEBAS DE SENSIBILIDAD totales realizadas	

• CONTROL DE CALIDAD DE REGISTROS E INFORMES.

Solicitamos enviar junto a la encuesta, y con el fin de evaluar el desempeño del laboratorio en la rutina de trabajo, la siguiente documentación:

• Los informes de resultados de los estudios bacteriológicos correspondientes a los aislamientos XXX, XX y XXX. Considere que desarrollaron a partir de muestras de esputo cultivadas en su laboratorio. Elabore los informes como lo haría en su rutina de trabajo, utilizando los formularios en uso en su laboratorio.

Firma del responsable _____

Anexo E.4. Plantilla para el registro de resultados de los aislamientos del control

Control de calidad N° 20 Aislamiento N° 1371 X/XX/20XX

EXAMEN MICROSCÓPICO: cuerdas

REPIQUES: LJ y ST 23/01	DECONTAMINACION:

Observaciones:

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN

Inmunocromatografía lateral (Complejo M. tuberculosis)

Resultado

Positivo ☐ **Negativo** ☐

Pruebas bioquímicas:

Niacina:	HT	CFA
Fotocromogenicidad:	Ureasa	Arilsulfatasa
Nitrato: + (3/2)	ß-glucosidasa	Pirazinamidasa (-) 07/02/2014
Catalasa TA 68°C	ß-galactosidasa	

HT: hidrólisi de tween, CFA: citrato de hierro y amonio

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

MGIT960
Lote: Fecha de siembra: 27-01 de Lj

Día de lectura	Testigo	S	I	R	E	K	A	Cp	O	Lev	Mox 0,25	Mox 1
07-02	Oka	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R

Método de las Proporciones

Lote Nº **Fecha de siembra:**

Lectura preliminar	
Fecha	Resistente a

Lectura final			Informado:							
Fecha	Dil	Testigos	S	I	R	E	K	A	Cp	O
	-3									
	-5									
	-6									

Se identifica como	Fecha Informe

Observaciones en informe:

Anexo E.5. Información general de los participantes del control

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
1	Laboratorio			Participa	Si no participa ¿cuál es el motivo?	Método utilizado para diagnóstico clínicos	Drogas utilizadas								Fecha de última validación de la cabina de bioseguridad	Periodicidad de la validación de la cabina de seguridad	Panel nº	Fecha de recepción de cepas	Fecha de remisón de resultados	Tiempo transcurrido de informe del centro evaluado (dias)	Fecha de envío del informe del centro evaluador
2																					
3	Institución	Profesional a cargo	Respondió				H	R	E	Z	K	Q*	AK	CP							
4	Hospital XXXXX	Lic. XXXXX																		DIAS(R4;S4)	
5	Hospital XXXXXX	Dra.XXXXXXXX																		DIAS(R5;S5)	
6																				DIAS(R6;S6)	
7																				DIAS(R7;S7)	
8																				DIAS(R8;S8)	

Estos datos permiten obtener información general acerca de la cobertura, metodologías utilizadas por los laboratorios, drogas ensayadas y condiciones de bioseguridad. Recordar que para que la fórmula en Excel se efectivice deben llevan el signo = delante de la misma (=DIAS (R4;S4)

Anexo E.6. Resultados de aislamientos por droga

	Droga Rifampicina																							
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	AÑO XXXX		Origen Round		OMS	Hospital XXX (MGIT 960)									Hospital XXXX (LJ)								
2					Concordancia en resultados de 31 laboratorios	N° codigo		Acierto		Acierto SC	D SC	No realizado		par ok	N° codigo		Acierto		Acierto SC	D SC	No realizado		par ok
3			QQ	1			Z	R	S			R	S			Z	R	S			R	S	
4	493	1A	19	R	100%	895	1	1							10	1	1						
5	4634	1B	19	R		874	1	1						1	499	1	1						1
6	1185	2A	19	R	100%	670	1	1							326	1	1						
7	2161	2B	19	R		173	1	1						1	201	1	1						1
8	242	3A	19	R	100%	592	1	1							126	1	1						
9	657	3B	19	R		291	1	1						1	334	1	1						1
10	283	4A	19	S	97%	969	1		1						286	FR							
11	3521	4B	19	S		67	1		1					1	57	FR							1
12	715	5A	19	R	100%	17	1	1							105	1	1						
13	1407	5B	19	R		661	1	1						1	311	1	1						1
14	5013	6A	19	S	97%	513	1		1						1060	1		1					
15	9177	6B	19	S		476	1		1					1	832	1		1					1
16	9268	7A	19	R	100%	345	1	1							551	1	1						
17	9094	7B	19	R		773	1	1						1	860	1	1						1
18	6080	8A	19	R	100%	193	1	1							1080	1	1						
19	8004	8B	19	R		1062	1	1						1	302	1	1						1
20	5025	9A	19	R	100%	226	1	1							939	1	1						
21	9553	9B	19	R		709	FS							0	915	1	1						1
22	6605	10A	19	S	100%	328	1		1						968	1		1					
23	9290	10B	19	S		866	1		1					1	445	FR							1
24	375	11	19	S	100%	176	1		1						922	FR							
25	2510	12	19	R	100%	908	1	1							848	1	1						
26	3290	13	19	R	100%	78	1	1							637	1	1						
27	2904	14	19	S	97%	490	1		1						381	1		1					
28	2174	15	19	R	100%	233	1	1							316	1	1						
29	5757	16	19	S	100%	2	1		1						1076	FR							
30	7391	17	19	S	100%	120	1		1						418	1		1					
31	8841	18	19	R	100%	625	1	1							40	1	1						
32	6520	19	19	S	97%	982	1		1						790	1		1					
33	5376	20	19	R	100%	433	1	1							468	1	1						
34	R				CONTAR.SI (D4:D33;A34)			18	11	0	0	0	0	10			SUMA Q4:Q33	SUMA R4:R33	SUMA R4:R33	SUMA R4:R33	SUMA R4:R33	SUMA R4:R33	SUMA R4:R33	
35	S				CONTAR.SI (D4:D33;A35)				29				0	9				SUMA (Q34:R34)					CONTAR.SI (R4:R33;1)
36	SC				CONTAR.SI (D4:D33;A36)																		
37	Total				SUMA E34:E36																		

38	Resultados de los laboratorios participantes	Total resultados correctos	29	R35
39		Verdaderos resistentes	18	Q34
40		FR	0	CONTAR.SI (P4:P33;C40)
41		Verdaderos sensibles	11	R34
42		FS	0	CONTAR.SI (P4:P33;C42)
43		Sensibilidad (%)	F39*100 (E34-L34)	O39*100 (E34-U34)
44		Especificidad (%)	F41*100 (E35-M34)	Q41*100 (E35-V34)
45		Eficiencia (%)	F38*100 (E34+E35-M35)	O38*100 (E34+E35-V35)
46		Reproducibilidad Intralaboratorio (%)	N35*100/N34	W35*100/W34

47	SC	sin considerar para el cálculo (concordancia < 80%)
48	FR	falso resistente
49	FS	falso sensible
50	*******	sin resultado (contaminado, no viable,dudoso)
51	D SC	desacierto de aislamientos sin considerar
52	No realizado	completar sólo para los aislamientos con concordancia mayor al 80%
53	par Ok	Resultados de duplicados
	Cada color representa un aislamiento	

Esta planilla tiende a simplificar los cálculos. En la misma se expresan las fórmulas que se deberán introducir para cada cálculo teniendo en cuenta las columnas y filas que deben estar implicadas y combinadas (recordar colocar el signo = delante de cada fórmula). Se recomienda realizar la introducción de todas las fórmulas y una vez confeccionada la planilla incorporar los datos de los resultados de las pruebas.

Se debe generar una solapa por droga e introducir las fórmulas para cada laboratorio y para cada método que aplique.

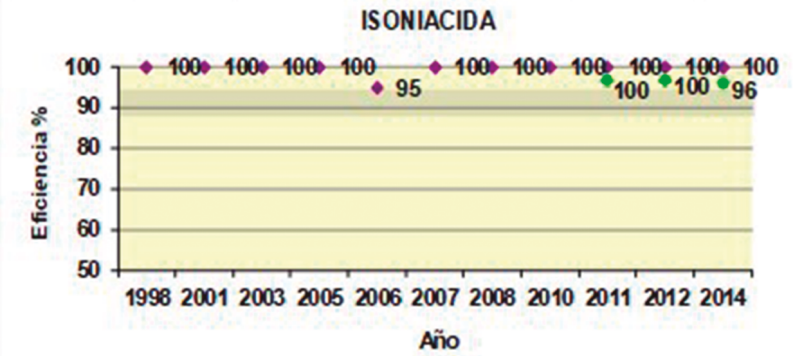
Anexo E. 7. Seguimiento de la calidad

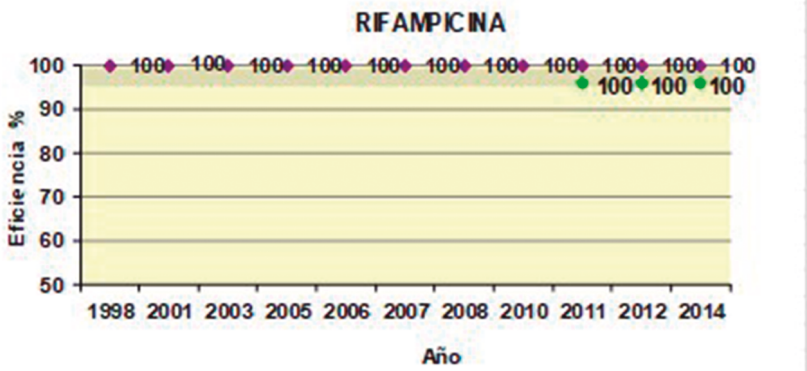
Eficiencia Isoniacida%											
	1998	2001	2003	2005	2006	2007	2008	2010	2011	2012	2014
Eficiencia %	100	100	100	100	95	100	100	100	100	100	100
									97	97	96

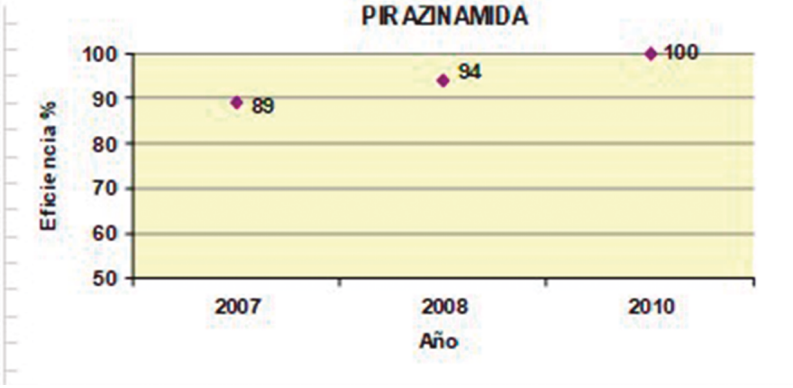
Eficiencia Rifampicina%											
	1998	2001	2003	2005	2006	2007	2008	2010	2011	2012	2014
Eficiencia %	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
									96	96	96

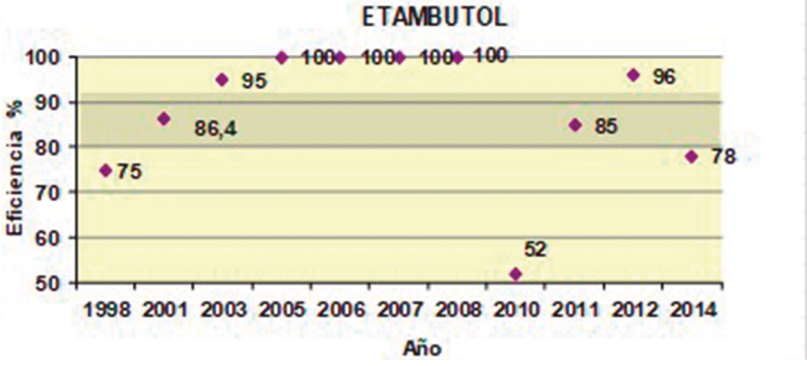
Eficiencia Etambutol%											
	1998	2001	2003	2005	2006	2007	2008	2010	2011	2012	2014
Eficiencia %	75	86,4	95	100	100	100	100	52	85	96	78

Eficiencia Pirazinamida%			
	2007	2008	2010
Eficiencia %	89	94	100









Anexo E.8. Informe de resultados

Control de Calidad de Pruebas de Sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis.*

Laboratorio: Hospital XXXX									
Panel nº 19 remitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS)									
Código de cepas		Resultados reportados por el laboratorio **R** = resistente **NI**= no informado **S** = sensible SD = **sin desarrollo, o contaminado**				Resultados de acuerdo al consenso de los Laboratorios Supranacionales **(OMS/Unión Internacional de Lucha contra la Tuberculosis, Global Projecton Anti-tuberculosis DrugResistanceSurveillance)** **1** = correcto **SC**= sin considerar (reproducibilidad **FR** = falso resistente menor al 80%) FS = **falso sensible**			
		Drogas investigadas				Drogas investigadas			
OMS	XXX	Pza	H	R	E	Pza	H	R	E
1A	**895**	R	R	S	S	1	1	1	SC
1B	**874**	R	R	S	R	1	1	1	SC
2A	**670**	S	R	R	S	SC	1	1	SC
2B	**173**	S	R	R	S	SC	1	1	SC
3A	**592**	S	R	R	S	FS	1	1	FS
3B	**291**	R	R	R	R	1	1	1	1
4A	**969**	S	S	R	S	1	1	1	1
4B	**67**	S	S	R	R	1	1	1	FR
5A	**17**	S	R	R	S	1	1	1	1
5B	**661**	S	R	R	S	1	1	1	1
6A	**513**	R	S	S	S	1	1	1	1
6B	**476**	S	S	S	S	FS	1	1	1
7A	**345**	R	R	R	R	1	1	1	SC
7B	**773**	R	R	S	S	1	1	FS	SC
8A	**193**	S	R	R	S	FS	1	1	FS
8B	**1062**	R	R	R	R	1	1	1	1
9A	**226**	S	R	S	S	SC	1	FS	FS
9B	**709**	S	S	S	S	SC	FS	FS	FS
10A	**328**	R	S	S	S	FR	1	1	1
10B	**866**	S	S	S	S	1	1	1	1
11	**176**	R	S	S	S	1	1	1	1
12	**908**	S	R	R	R	1	1	1	1
13	**78**	R	R	S	S	1	1	1	1
14	**490**	R	S	R	S	1	1	1	1
15	**233**	S	R	R	S	FS	1	1	1
16	**2**	S	S	S	S	1	1	1	1
17	**120**	S	S	S	S	1	1	1	1
18	**625**	R	R	R	S	1	1	1	FS
19	**982**	R	S	R	S	FR	1	1	1
20	**433**	S	R	S	R	1	1	1	1

Método utilizado: 3		Total resultados correctos				**20**	**29**	**27**	**18**
1- Proporciones en LJ		Verdaderos resistentes				**11**	**18**	**16**	**4**
2- BACTEC 460		Falsos resistentes				**2**	**0**	**0**	**1**
3- MGIT 960		Verdaderos sensibles				**9**	**11**	**11**	**14**
4- Nitratoreductasa		Falsos sensibles				**4**	**1**	**3**	**5**
Arribo		Sensibilidad (%)				**73**	**95**	**84**	**44**
Cepas:20/05/2014		Especificidad (%)				**82**	**100**	**100**	**93**
Resultados: 22/09/2014		Eficiencia (%)				**77**	**97**	**90**	**75**
Tiempo empleado: 122 días		Reproducibilidad intralaboratorio (%)				**50**	**90**	**90**	**57**

Los siguientes tubos son duplicados de una misma cepa y fueron utilizados para evaluar la reproducibilidad intralaboratorio:
(874 y 895); (173 y 670); (291 y 592); (67 y 969); (17 y 661); (476 y 513);(345 y 773); (193 y 1062); (226 y 709);(328 y 866).

Los métodos estandarizados y validados para estudiar la sensibilidad de Mycobacterium tuberculosis a las drogas antituberculosis son muy precisos y, las experiencias de la red de Laboratorios Supranacionales de OMS, han establecido que es dable esperar una eficiencia mayor a 90% para etambutol y mayor a 95% para isoniacida y rifampicina. Se han propuesto límites de aceptabilidad de la eficiencia (eficiencia media – 1 desvío estándar de los resultados obtenidos en esa red internacional durante 5 años de trabajo). Así, fueron clasificadas como no aceptables eficiencias consistentemente menores a 90% para etambutol y a 95% para isoniacida y rifampicina.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las consideraciones precedentes su laboratorio ha demostrado, **por el método de las proporciones en MGIT 960, buena calidad para evaluar la actividad a isoniacida y calidad no aceptable para evaluar la actividad a rifampicina y etambutol.**
Es preocupante la aparición de falsos sensible en la rifampicina, droga clave para el tratamiento de la tuberculosis. Recomendamos evaluar nuevamente los aislamientos del panel con resultado erróneo para rifampicina, a fin de descartar algún error en el proceso de siembra de las mismas.
Para el caso de la droga etambutol se realiza el seguimiento de resultados de ambos laboratorios de todos los aislamientos multirresistentes

OBSERVACIONES

Se adjunta el seguimiento de la eficiencia demostrada por el laboratorio durante el transcurso de este control.

Firma del profesional _____

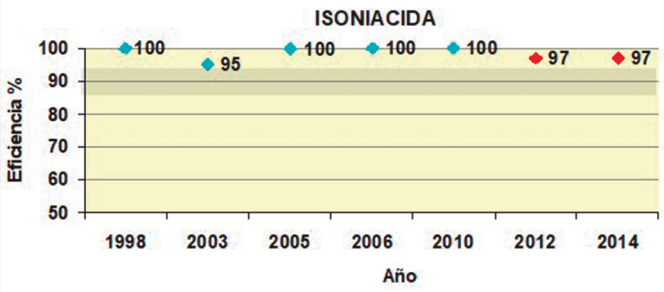
Anexo E.9. Seguimiento de la calidad de las PS

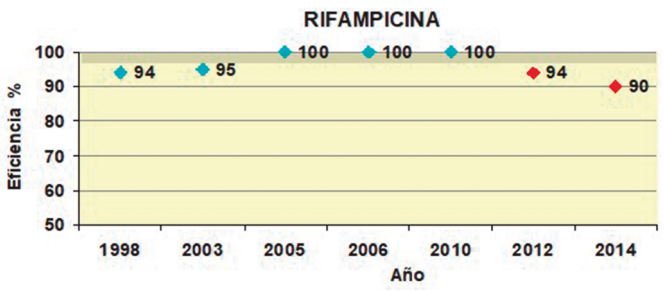
Seguimiento de la calidad de pruebas de sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis*

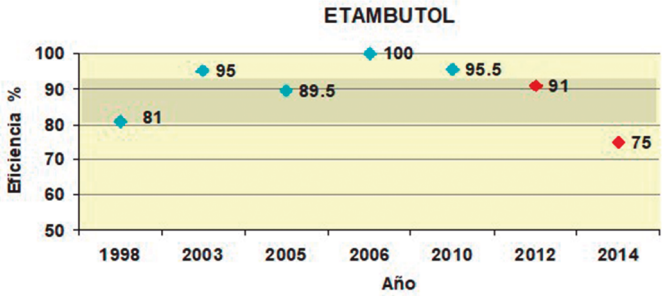
Estudio Cooperativo Interlaboratorios - Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis

Instituto XXXXXXXX

Hospital XXXX







No participó en los años 2001, 2008 y 2011

- ♦ Resultado por método de las proporciones en LJ
- ♦ Resultado por método de las proporciones en BACTEC MGIT 960

Valores alcanzados en el Hospital XXXXXX

- ♦♦ Rango de valores entre la media alcanzada internacionalmente en laboratorios con buena calidad y la mínima aceptable

ANEXO F. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD GENOTÍPICAS

Sistema Xpert MTB/RIF

Anexo F.1. Preparación de suspensiones de micobacterias inactivadas

Procedimiento

• Conformar el panel con las cepas que integran los paneles enviados a los LSNs por el Instituto de Medicina Tropical de Bélgica para el control de calidad de pruebas de sensibilidad a drogas antituberculosas. Incluir aquellas seleccionadas por consenso de LSNs que asisten a los países latinoamericanos teniendo en cuenta la prueba a evaluar (Xpert, FL-LPA o SL-LPA). Excluir las cepascon resultados con concordancia menor al 80% y/o aquellas que tengan resultados obtenidos por métodos fenotípicos y genotípicos discrepantes.

• Realizar los ensayos con Xpert o LIPAs con suspensiones conuna concentración aproximada de 5000 bacilos/ml.

• Preparar las suspensiones que conforman el panel para cada LNR, siguiendo el siguiente protocolo y respetando las condiciones de bioseguridad para manipular suspensiones de *M. tuberculosis:*

- Con un asa bacteriológica raspar toda la superficie con desarrollo bacteriano, evitando tomar medio de cultivo.

- Descargar toda la masa bacilar dentro del tubo con perlas de vidrio, realizando movimientos giratorios del asa sobre las perlas.

- Agregar 1 o 2 gotas de agua estéril, tapar y agitar con vortex por 1 minuto.

- Agregar aproximadamente 1 ml de agua estéril y volver a agitar con vortex 1 minuto.

- Dejar la suspensión en reposo por 15 minutos.

- Con una pipeta Pasteur, transferir el sobrenadante del tubo con perlas a un nuevo tubo con tapa a rosca, cuidando de no remover el sedimento.

- Agregar agua al contenido de este tubo con rosca, hasta lograr igualar la turbidez de una suspensión McFarland 1.

- Con micropipeta o pipeta transferir 1 ml de la suspensión a un tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1:10, 10-1).

- Con micropipeta o pipeta transferir 100 µl de la suspensión 10-1 a un tubo con 9,9 ml de agua destilada (dilución 1:100 10- 3).

- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10- 3 a un tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1:10, 10-4).

- Con micropipeta o pipeta calibrada, transferir 1 ml de la suspensión 10-4 a un tubo con 9 ml de agua destilada (dilución 1:10, 10-5).

- Sembrar 200µl de las diluciones 10-3, 10-4 y 10-5 en dos tubos de LJ o 7H11 e incubar a 37oC por 30 o 40 días, para cuantificar unidades formadoras de colonias.

- Calentar el remanente de las diluciones 10-1, 10- 3, 10-4 y 10-5 en baño María a 80oC por 30 minutos para matar a los bacilos.

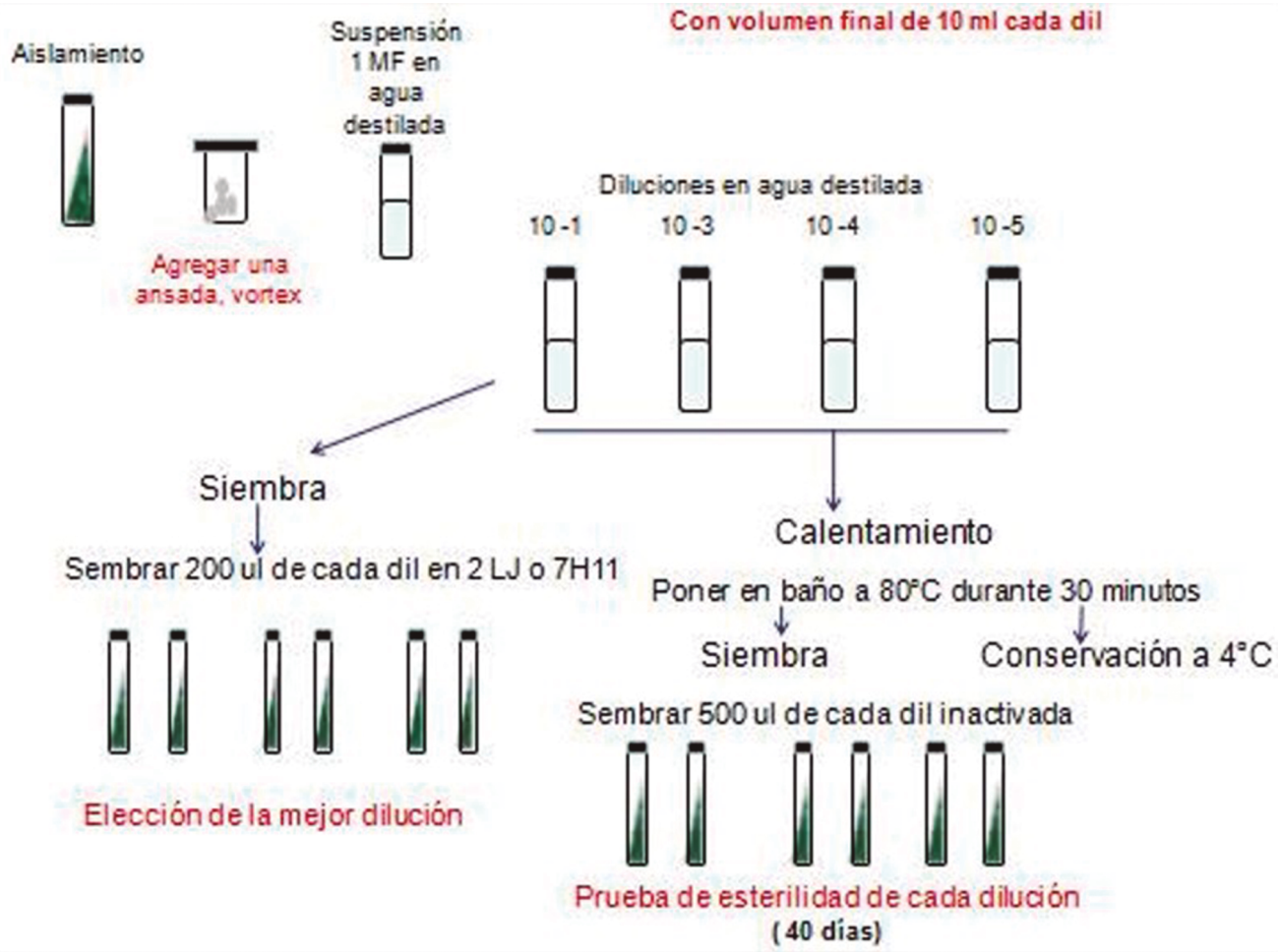
- Sembrar 500 µl de cada una de las suspensiones inactivadas en dos tubos de LJ o 7H11 e incubar a 37oC por 40 días para verificar la ausencia de desarrollo.

- Conservar las diluciones 10- 3, 10-4 y 10-5 a 4oC hasta determinar el N° de unidades formadoras de colonias que posee cada dilución, para poder seleccionar la dilución a utilizar.

Finalizadas las incubaciones:

- Verificar que no haya crecido ninguna colonia en las suspensiones inactivadas.

- Cuantificar la concentración de bacilos viables que existían en las diferentes diluciones antes de inactivar.



Anexo F.2. Información solicitada para control de prueba de sensibilidad

Apoyo del LSN al LRN para la verificación de un sistema cerrado automatizado de extracción y amplificación de ADN en tiempo real para la detección de la resistencia a rifampicina en Mycobacterium tuberculosis (Xpert MTB/RIF)

Tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

• Trabaje al menos con las mismas normas de bioseguridad que para la baciloscopia de las muestras de esputo http://www1.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-baciloscopia.pdf

• Procese cada tubo como si contuviera una muestra de esputo

• Siga el protocolo que aplica habitualmente en su laboratorio

• Cada procedimiento debe ser realizado por el o los operadores que habitualmente lo realizan en la rutina

• Complete el formulario adjunto con los resultados y la información solicitada y envíelo por correo a su laboratorio de referencia.

Laboratorio participante:
PANEL Nº
Utiliza cartucho común ☐ ultra ☐
Resultados de las pruebas:

Muestra	Resultado		Cantidad de ADN de *M. tuberculosis* ***	Sonda mutada ****	Observaciones
	Equipo*	Laboratorio **			

* Consignar el resultado que emite el equipo: N (MTB No Detectado); T (MTB Detectado Rif Resistencia No Detectada); RR (MTB Detectado Rif Resistencia Detectada); TT (MTB Detectado por trazas Rif Indeterminado); I (Inválido; consignar el Error 5006/5007/5008, 5011, 2008, 2127, 2037 o 2014/3074/3075/1011)

** TB ND (no se ha detectado M. tuberculosis); TB RR (M. tuberculosis resistente a rifampicina); TB SR (M. tuberculosis sensible a rifampicina); TB (M. tuberculosis, no se pudo determinar la resistencia a rifampicina)

***ALTA (positivo en menos de 16 ciclos), MEDIO (positivo entre los 16 a 22 ciclos), BAJA (positivo entre los 23 a 28 ciclos), MUY BAJA (positivo después de los 28 ciclos), TRAZAS (menos de 37 ciclos para el cartucho ULTRA)

**** sonda mutada: consignar según se identifique en la curva

Se ha realizado alguna experiencia de validación del método Xpert MTB/RIF en su país
SI ☐ NO ☐

Si la respuesta fue afirmativa, complete la siguiente información

- ☐ Utilizó muestras pulmonares
- ☐ muestras extrapulmonares
- ☐ aislamientos (cultivos positivos)

Para evaluar los resultados tomó como referencia

- ☐ el resultado de la baciloscopia
- ☐ el resultado del cultivo
- ☐ otro (describa)

Resuma los resultados en el cuadro según el tipo de muestras que utilizó y el resultado de la baciloscopia

Muestras pulmonares (baciloscopia positiva)

Resultado Método Xpert MTB/RIF	Resultado obtenido por el método de referencia		Total
	Tuberculosis	No se detectó tuberculosis	
Positivo			
Negativo			
Total			

Muestras pulmonares (baciloscopia negativa)

Resultado Método Xpert MTB/RIF	Resultado obtenido por el método de referencia (cultivo)		Total
	Tuberculosis	No se detectó tuberculosis	
Positivo			
Negativo			
Total			

Muestras pulmonares (baciloscopia positiva y negativa)

Método Xpert MTB/RIF	Método de referencia: ..... utilizado		Total
	Resistente a R	No resistente a R	
Mutación			
No se detecta mutación			
Total			

1. ¿Para qué tipo de pacientes se aplica el método en la rutina de trabajo?

.....

.....

.....

¿En su país se ha consensuado un algoritmo de trabajo para emplear el Xpert?

SI ☐ NO ☐

En caso que su respuesta sea SI adjunte una copia

2. ¿Han surgido problemas con el equipo? Marque los problemas

Problemas con el equipo		**Cartuchos con errores**	
No se detectan los módulos		Falla de la sonda de control con detención de la amplificación. (Error 5006, 5007, 5008)	
No funciona el escáner del código de barra		Pérdida de señal de la curva de amplificación (Error 5011)	
Supuesto fallo de módulo (parpadeo de luz roja)		Presión supera la presión máxima permitida (Error 2008)	
Atascamiento del cartucho		Pérdida de comunicación con el módulo (Error 2127)	

3. ¿Realiza un seguimiento de la frecuencia de errores, resultados no válidos, falta de resultados por módulo y usuario? SI ☐ NO ☐

4. Indique el porcentaje de pruebas para cada inconveniente marcado, colocando como numerador el número de cartuchos invalidados según los distintos problemas y como denominador el número total de cartuchos utilizados

5. ¿Reporta los errores recurrentes a Cepheid? SI ☐ NO ☐

6. Fecha en la que ha realizado la última calibración de cada equipo GeneXpert para la investigación de *M. tuberculosis* __/__/__

7. ¿Si hay más de un equipo, quien coordina la calibración?

8. ¿Ha tenido inconvenientes con los insumos o repuestos ? SI ☐ NO ☐

Si su respuesta es SI marque el tipo de inconveniente

- ☐ alto número de cartuchos defectuosos
- ☐ falta de stock de cartuchos (consigne la cantidad de meses)
- ☐ descarte de cartuchos por falta de uso antes del vencimiento
- ☐ malas condiciones para el almacenaje
- ☐ falta de reemplazo de módulos defectuosos (consigne la cantidad de meses)
- ☐ otro

Envíe copia del informe con el resultado de las cepas XX y XX empleando el formato (formulario) empleado en la rutina de trabajo

.....

Firma del responsable

Anexo F.3. Informe de resultados

Control de Calidad Pruebas de Sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis.*

Control Externo Interlaboratorios 20XX - Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis.

Institución que realiza el control

Laboratorio:				
Panel nº 18 remitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS)				
Código de cepas			**Resultados reportados por el laboratorio**	**Resultados de acuerdo al consenso de los Laboratorios Supranacionales** (OMS/Unión Internacional de Lucha contra la Tuberculosis, Global Project on Anti-tuberculosis DrugResistancSurveillance)
OMS	**Laboratorio X**	**resultado secuenciación rpoB**	**P** = presencia de mutación **A** = ausencia de mutación **NI** = no interpretable **ND** = no detectado	**1** = correcto **Fp** = falsa presencia de mutación **Fa** = falsa ausencia de mutación
1A	**826**	**His526Asn**	P	**1**
1B	**758**	**His526Asn**	ND	***************
3A	**539**	**His526Try**	P	**1**
3B	**879**	**His526Try**	P	**1**
4A	**354**	**Ser531Leu**	P	**1**
4B	**406**	**Ser531Leu**	P	**1**
5A	**527**	**Ser531Leu**	P	**1**
5B	**145**	**Ser531Leu**	NI	***************
6A	**32**	**Wtype**	A	**1**
6B	**97**	**Wtype**	A	**1**
7A	**572**	**Wtype**	A	**1**
7B	**124**	**Wtype**	A	**1**
9A	**726**	**Wtype**	A	**1**
9B	**65**	**Wtype**	A	**1**
11	**1092**	**Wtype**	A	**1**
12	**1039**	**Wtype**	A	**1**
14	**353**	**asp516Val**	P	**1**
17	**844**	**Ser531Leu**	P	**1**
18	**985**	**Wtype**	A	**1**
**********	**1020 (*)**	*************	ND	***************
Método utilizado: 5 1- Proporciones en LJ 2- BACTEC 460 3- MGIT 960 4- Nitrato reductasa 5-Xpert MTB/RIF			**Total resultados correctos**	**17**
			Verdaderos resistentes	**8**
			Falsos resistentes	**0**
			Verdaderos sensibles	**9**
			Falsos sensibles	**0**
			Sensibilidad (%)	**80**
			Especificidad (%)	**100**
			Eficiencia (%)	**89**
			Reproducibilidad intralaboratorio (%)	**100**

(*) aislamiento identificado como *M. kansasii*

Los siguientes tubos son duplicados de una misma cepa y fueron utilizados para evaluar la reproducibilidad intralaboratorio:
(758 y 826); (539 y 879); (354 y 406); (145 y 527); (32 y 97); (124 y 572); (65 y 726).

CONCLUSIONES

No se verificaron discrepancias de resultados con el método molecular Xpert MTB/RIF. Sin embargo, el laboratorio no pudo interpretar el resultado de una muestra del panel. En tanto que, no detectó DNA, en otra muestra correspondiente a *Mycobacterium tuberculosis.*

OBSERVACIONES

Firma del profesional

Anexo F.4. Ejemplo de lista de suspensiones bacilares inactivadas remitidas al LNR del país XX para la confección de los paneles para las pruebas de aptitud.

Panel PS 12 de QQ18			Panel Nª	1	2
	Cepa OMS	Cepa N	mutación RIF	País XX	País XXX
1A	2426	1092	His526Asn	831	826
4A	3268	121	Ser531Leu	338	354
14	4646	812	asp516Val	991	353
6B	7601	1168	Wtype	963	97
	7881		M kansasii	895	32

Anexo F.5 Ejemplo para la preparación de paneles para el control de calidad para un LNR que necesita evaluar un numero de laboratorios ≤a 15.

Selección de la suspensión

Este material será de utilidad para que el LNR prepare los paneles necesarios para controlar la calidad del diagnóstico realizado mediante Xpert MTB/Rif en la red de laboratorios de tuberculosis de su país.

El LNR recibirá del LSN viales conteniendo aproximadamente 50 000 bacilos/ml rotulados de la siguiente manera:

(1) *Mycobacterium tuberculosis resistente a RIF (2 tubos de 1,8 ml c/u)*

(2) *Mycobacterium tuberculosis resistente a RIF (2 tubosde 1,8 ml c/u)*

(3) *Mycobacterium tuberculosis sensible a RIF (2 tubosde 1,8 ml c/u)*

(4) *Mycobacterium tuberculosis sensible a RIF (2 tubosde 1,8 ml c/u)*

(5) *MNT (2 tubosde 1,8 ml c/u)*

Se han caracterizado estas cepas según lo informado por el LSN del Instituto de Medicina Tropical de Bélgica en relación con:

i) la identificación de *M. tuberculosis;*

ii) presencia y tipo de mutación en la región del gen rpoB explorada o ausencia de mutación.

Dado que cada tubo contiene una suspensión de bacilos con una concentración aproximada de 50.000 bacilos/ml, será necesario realizar una dilución 1/10 para lograr una concentración aproximada de 5000 bacilos/ml, concentracion que ha sido establecida como la óptima para la realización de esta prueba de aptitud. Con estas diluciones se prepararán paneles, constituido por las 5 suspensiones bacilares diluidas por el LNR.

Para calcular el número de paneles a preparar, considere que el LRN deberá ensayar un panel para corroborar que los resultados sean los esperados y que, para el caso en que necesite reemplazar algún vial o reiterar algún envío, conviene tener al menos 2 paneles de reserva.

Para preparar los paneles elija criotubos o tubos con tapa a rosca que permitan un envío seguro sin peligro de derrame. Seguir las normas de transporte de muestras que rigen en su país.

Preparación de los paneles en el LRN

Número de laboratorios a controlar en la red de laboratorios de su país: **15**

Número de paneles a preparar: **18**

Volumen total de suspensión de 5.000 bacilos/ml a preparar con cada cepa: **18 ml**

Proceder de la siguiente manera

• Preparar 1 tubo que permita contener hasta 20 ml, dispensar 16,2 ml de agua destilada estéril y rotular con el número que figura en el tubo remitido por el LSN.

• Tomar los dos criotubos rotulados con el mismo número (Nº1) que fueron enviados por el LSN.

• Transferir y juntar el contenido de ambos en un único tubo vacío y mezclar con vortex.

• Transvasar 1,8 ml de esta suspensión al tubo que contiene 16,2 ml de agua destilada estéril (total 18 ml) (dilución 1:10).

• Mezclar con vortex.

• Distribuir 1 ml de la suspensión homogenizada en criotubos de 2 ml con tapa con rosca externa.

• Rotular cada uno de los 18 tubos de la cepa con números seleccionado al azar. Puede utilizar en forma consecutiva la siguiente lista generada con la computadora:

Lista de números al azar

1	168	253	77	658	278	757
115	362	262	542	327	445	463
215	377	402	405	732	625	427
342	440	424	940	875	957	901
404	736	118	142	297	656	437
670	836	186	422	1081	644	633
669	929	436	433	299	295	434
943	913	870	268	683	538	716
534	84	1018	508	108	293	898
58	723	1065	567	112	392	318
3	884	517	771	473	524	4
63	783	634	868	1076	1024	671
547	180	408	773	301	487	767
861	867	387	758	139	106	1052
177	676	429	759	824	1098	54
384	536	263	828	891	852	1055
685	553	338	135	906	322	406
721	389	416	983	241	474	117
873	770	649	830	265	813	399

• Tomar los 18 primeros números y rotular cada uno de los tubos de la cepa 1.

• Registrar los números de esa cepa que le ha correspondido a cada panel que se está preparando. Se puede emplear una planilla excel.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Cepa 1	1	115	215	342	404	670	669	943	534	58	3	63	547	861	177	384	685	721

• Repetir el procedimiento con el resto de las cepas 2, 3 , 4 y 5 e incorporar los números en la planilla excel.

	Paneles Nº																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Cepa 1	1	115	215	342	404	670	669	943	534	58	3	63	547	861	177	384	685	721
Cepa 2	873	168	362	377	440	736	836	929	913	84	723	884	783	180	867	676	536	553
Cepa 3	389	770	253	262	402	424	118	186	436	870	1018	1065	517	634	408	387	429	263
Cepa 4	338	416	649	77	542	405	940	142	422	433	268	508	567	771	868	773	758	759
Cepa 5	828	135	983	830	658	327	732	875	297	1081	299	683	108	112	473	1076	301	139

• Agrupar, teniendo en cuenta la tabla, los cinco viales de cada panel 1. Ejemplo: Del panel 1.

Panel 1	Panel 2	Panel 3
1	115	215
873	168	362
389	770	253
338	416	649
828	135	983

• Cubrir con papel parafilm la tapa a rosca de cada vial para asegurar y proteger su cierre.

• Envasar en forma individual cada vial.

• Colocar los viales en una sola bolsa rotulada con el número del panel que le corresponde.

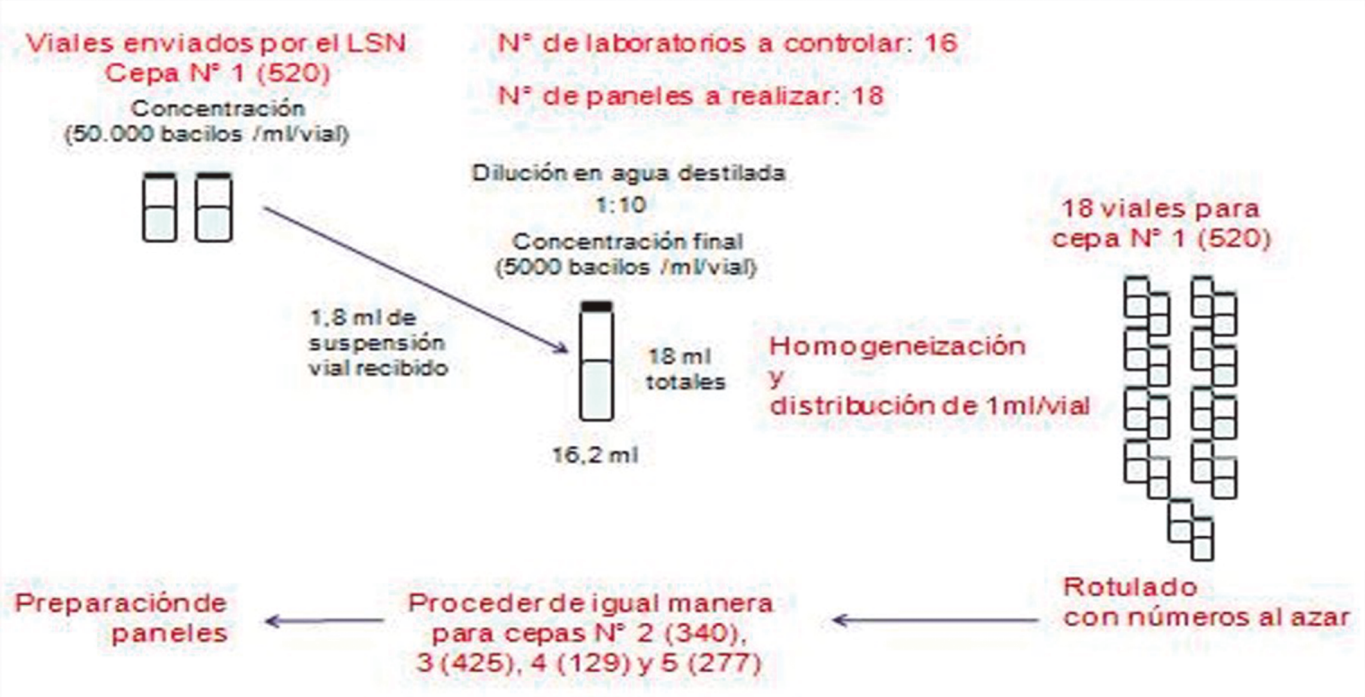
• Mantener refrigerados los paneles hasta que se realice el envío, preferentemente a -20ºC.

• Acondicionar el envío según la reglamentación de transporte de material biológico que rige en cada país. Colocar la bolsa en un primer contenedor de plástico el cual irá en otros contenedores de cartón.

• Adjuntar con cada panel las instrucciones para ensayar.

• Registrar el número de panel va a ser enviado a cada laboratorio a controlar y el que va a ser ensayado por el LRN.

• Coordinar con cada laboratorio la fecha de envío y recepción del panel correspondiente.



Anexo F.6. Formulario para control de calidad externa

Control de calidad externo de los laboratorios periféricos usuarios de un sistema cerrado automatizado de extracción y amplificación de ADN en tiempo real para la detección de la resistencia a rifampicina en *Mycobacterium tuberculosis* (Xpert MTB/RIF)

Tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

• Trabaje al menos con las mismas normas de bioseguridad que para la baciloscopia de las muestras de esputo http://www1.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/tb-labs-baciloscopia.pdf

• Procese cada tubo como si contuviera una muestra de esputo

• Siga el protocolo que aplica habitualmente en su laboratorio

• Cada procedimiento debe ser realizado por el o los operadores que habitualmente lo realizan en la rutina

• Complete el formulario adjunto con los resultados y la información solicitada y envíelo por correo a:

Laboratorio o Centro de Salud participante:
PANEL Nº
Resultados de las pruebas:

Muestra	Resultado		Cantidad de ADN de *M. tuberculosis* ***	Sonda mutada ****	Observaciones
	Equipo*	Laboratorio **			

* Consignar el resultado que emite el equipo: N (MTB No Detectado); T (MTB Detectado Rif Resistencia No Detectada); RR (MTB Detectado Rif Resistencia Detectada); I (Inválido; consignar el Error 5006/5007/5008, 5011, 2008, 2127, 2037 o 2014/3074/3075/1011)

** TB ND (no se ha detectado M. tuberculosis); TB RR (M. tuberculosis resistencia a rifampicina); TB SR (M. tuberculosissensible a rifampicina); TB (M. tuberculosis, no se pudo determinar la resistencia a rifampicina)

***ALTA (positivo en menos de 16 ciclos), MEDIO (positivo entre los 16 a 22 ciclos), BAJA (positivo entre los 23 a 28 ciclos), MUY BAJA (positivo después de los 28 ciclos)

**** sonda mutada: consignar según se identifique en la curva

1- ¿Para qué tipo de pacientes está aplicando el método en la rutina de trabajo?
.....
.....
.....

2- Han surgido problemas con el equipo?Marque los problemas

Problemas con el equipo		**Cartuchos con errores**	
No se detectan los módulos		Falla de la sonda de control con detención de la amplificación. (Error 5006, 5007, 5008)	
No funciona el escáner del código de barra		Pérdida de señal de la curva de amplificación (Error 5011)	
Supuesto fallo de módulo (parpadeo de luz roja)		Presión supera la presión máxima permitida (Error 2008)	
Atascamiento del cartucho		Pérdida de comunicación con el módulo (Error 2127)	
Determinación con resultados no válidos		Falla en la prueba de integridad del cartucho (Error 2037)	
Falla en el control de procesamiento de muestra		Falla de calentamiento o temperatura. (Error 2014, 3074, 3075, 1001)	
Determinación sin resultados		**Otro.....**	

3- ¿Realiza un seguimiento de la frecuencia de errores, resultados no válidos, falta de resultados por módulo y usuario?

SI ☐ NO ☐

4- Indique el porcentaje de corridas para cada inconveniente marcado, colocando como numerador el número de cartuchos invalidados según los distintos problemas y como denominador el número total de cartuchos utilizados

5- ¿Reporta los errores recurrentes al LRN? SI ☐ NO ☐

6- ¿Ha recibido visitas de supervisión por parte del LNR?

7- Fecha en la que ha realizado la última calibración de cada equipo GeneXpert para la investigación de *M. tuberculosis* ____ /____ /____

8- ¿Ha tenido inconvenientes con los insumos? SI ☐ NO ☐

Si su respuesta es SI marque el tipo de inconveniente

- ☐ high number of defective cartridges
- ☐ falta de stock de cartuchos (consigne la cantidad de meses)

- ☐ descarte de cartuchos por falta de uso antes del vencimiento
- ☐ malas condiciones para el almacenaje
- ☐ falta de reemplazo de módulos defectuosos (consigne la cantidad de meses)
- ☐ otro

Envíe copia del informe con el resultado de las cepas XX y XX empleando el formato (formulario) empleado en la rutina de trabajo

.....
Firma del responsable

Anexo F.7. Análisis de resultados

	A	B	C	D	E	F	G	M	N
1	20XX		Origen	OMS		Laboratorio XXX		Laboratorio XXX	
2			Round			N° codigo	Resultado informado	N° codigo	Resultado informado
3			Control de calidad	1	*ropB*				
4	2426	1A	18	M	His526Asn	513	20	831	
5	3268	4A	18	W	Ser531Leu	535	0	338	
6	4646	14	18	W	wildtype	360	20	407	
7	7601	6B	18	M	wildtype	284	10	963	
8	21454				M kansasii	679	20	20	
9	Puntaje						70		SUMA (N4:N8)
10	Eficiencia						70		N9*100/100

ANEXO G. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD GENOTÍPICAS

Sistema LIPAs (FL-LPA o SL-LPA)

Anexo G.1. Información solicitada para control de prueba de sensibilidad

Apoyo a la verificación de un sistema abierto de amplificación e hibridación reversa (LIPAs) para la detección de resistencia a rifampicina e isoniacida (FL-LPA) o a drogas antituberculosis de segunda línea (SL-LPA)

Tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

• Trabajar, para la extracción y carga del DNA, al menos con las mismas normas de bioseguridad que para el manejo de muestras (Laboratorios de riesgo moderado). Para el resto del proceso tener en cuenta los dos espacios separados que se utilizan en cualquier práctica molecular que utilizan sistemas abiertos de amplificación (preparación de mezcla de amplificación y apertura de productos amplificados)

• Procesar cada tubo como si contuviera una muestra de esputo

• Seguir el protocolo que aplica habitualmente en su laboratorio

• Cada procedimiento debe ser realizado por el o los operadores que habitualmente lo realizan en la rutina

• Completar el formulario adjunto con los resultados y la información solicitada y enviarlo por correo electrónico a su laboratorio de referencia.

Laboratorio participante:
PANEL Nº
Resultados de las pruebas a Rif y INH:

	Banda TUB P: presente A: ausente	Resultado M: mutado No M: no mutado			Banda control de locus P: presente A: ausente			Sonda mutada *	Observaciones
Muestra	*M tuberculosis*	RIF	INH		RIF	INH			
		*rpo*B	*kat*G	*inh*A	*rpo*B	*kat*G	*inh*A		

* se debe consignar la mutación detectada que está indicada por la ausencia de banda de tipo silvestre y / o la presencia de una banda mutante para cada grupo de genes.

PANEL Nº
Resultados de las pruebas a inyectables y quinolonas:

	Banda TUB P: presente A: ausente	Resultado M: mutado No M: no mutado				Banda control de locus P: presente A: ausente				Sonda mutada *	Observaciones
Muestra	*M tuberculosis*	Inyectables		Quinolonas		Inyectables		Quinolonas			
		rrs	eis	*gyrA*	*gyrB*	*rrs*	eis	*gyrA*	*gyrB*		

* se debe consignar la mutación detectada que está indicada por la ausencia de banda de tipo silvestre y / o la presencia de una banda mutante para cada grupo de genes.

1- Se ha realizado alguna experiencia de validación del método LIPA en su país

SI ☐ NO ☐

FL-LPA (isoniacida y rifampicina) ☐ SL-LPA (inyectables, quinolonas) ☐

2- Si la respuesta fue afirmativa, complete la siguiente información

Utilizó

- ☐ muestras pulmonares
- ☐ aislamientos(cultivos positivos)

Para evaluar los resultados tomo con referencia

- ☐ el resultado de la baciloscopia
- ☐ el resultado del cultivo
- ☐ otro (describa)

Resuma los resultados en el cuadro según el tipo de muestras que utilizó y el resultado de la baciloscopia. Indique al porcentaje de resultados inválidos e indeterminados (estratificando por fármaco si corresponde) obtenido durante la etapa de validación.

Muestras pulmonares (baciloscopia positiva)

Resultado Método LIPA (FL-LPA)	Resultado obtenido por el método de referencia (cultivo)		Total
	Tuberculosis	No se detectó tuberculosis	
Positivo			
Negativo			
Total			

Muestras pulmonares (baciloscopia negativa)

Resultado Método LIPA (FL-LPA)	Resultado obtenido por el método de referencia (cultivo)		Total
	Tuberculosis	No se detectó tuberculosis	
Positivo			
Negativo			
Total			

Muestras pulmonares (baciloscopia positiva y negativa)

Método LIPA (FL-LPA)	Método de referencia: ..... utilizado		Total
	Resistente a R	No resistente a R	
Mutación			
No se detecta mutación			
Total			

Aislamientos

Método LIPA (FL-LPA)	Método de referencia: ..... utilizado		Total
	Resistente a R	No resistente a R	
Mutación			
No se detecta mutación			
Total			

Muestras pulmonares (baciloscopia positiva y negativa)

Método LIPA (FL-LPA)	Método de referencia: ..... utilizado		Total
	Resistente a INH	No resistente a INH	
Mutación			
No se detecta mutación			
Total			

Aislamientos

Método LIPA (FL-LPA)	Método de referencia: ..... utilizado		Total
	Resistente a INH	No resistente a INH	
Mutación			
No mutación			
Total			

En caso de que la verificación haya sido realizada para el SL-LPA completar los cuadros para las respectivas drogas. En el caso de los inyectables de segunda línea y/o quinolonas se sugiere hacer el análisis para las drogas por separado así se podrá observar la precisión del sistema para identificar la sensibilidad a los distintos fármacos inyectables de segunda línea y a las quinolonas de distinta generación.

3-¿Para qué tipo de pacientes se aplica el método en la rutina de trabajo?

.....

.....

.....

¿En su país se ha consensuado un algoritmo de trabajo para emplear el LIPAs?

SI ☐ NO ☐

En caso que su respuesta sea SI adjunte una copia

¿Cuántos laboratorios de la red han implementado el método?

4-¿Realiza un seguimiento de la frecuencia de resultados no válidos/indeterminados por usuario?

SI ☐ NO ☐

5-¿Ha estado inactivo algunos de los equipos de la red? ¿Cuántos? ¿Por qué?

6-¿Ha tenido inconvenientes con los insumos? SI ☐ NO ☐

Si su respuesta es SI marque el tipo de inconveniente

- ☐ falta de stock de las tiras (consignar la cantidad de meses)
- ☐ descarte de tiras por falta de uso antes del vencimiento
- ☐ malas condiciones para el almacenaje
- ☐ otro

7-Envíe copia del informe con el resultado de las cepas XX y XX empleando el formato (formulario) empleado en la rutina de trabajo

.....

Firma del responsable

Anexo G.2 Informe de resultados

Control de Calidad Pruebas de Sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis.*

Control Externo Interlaboratorios 20XX - Red Nacional de Laboratorios de Tuberculosis.

Institución que realiza el control

Laboratorio:							
Panel nº 18 remitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS)							
Código de cepas		**Resultados reportados por OMS** **M: gen mutado** **No M: No mutación**		**Resultados reportados por el laboratorio**		**Resultados de acuerdo al consenso de los Laboratorios Supranacionales** (OMS/Unión Internacional de Lucha contra la Tuberculosis, Global Project on Anti-tuberculosis DrugResistanSurveillance)	
OMS	**Institución XXX**	**resultado secuenciación *rpo*B**	**resultado secuenciación katG e inhA**	**P** = ausencia de banda salvaje con o sin presencia de mutación correspondiente **A** = ausencia de mutación **NI** = no interpretable (**)		**1** = correcto **Fp** = falsa presencia de mutación **Fa** = falsa ausencia de mutación	
				Rif	**INH**	**Rif**	**INH**
1A	**513**	**M**	M	P	P	1	**1**
1B	**601**	**M**	M	P	P	1	**1**
3A	**607**	**M**	M	P	P	1	**1**
3B	**447**	**M**	M	P	P	1	**1**
4A	**535**	**M**	No M	P	A	1	**1**
4B	**515**	**M**	No M	P	A	1	**1**
5A	**360**	**No M**	M	A	P	1	**1**
5B	**921**	**No M**	M	A	NI	1	**********
6A	**793**	**No M**	M	A	P	1	**1**
6B	**284**	**No M**	M	A	P	1	**1**
7A	**556**	**No M**	No M	A	A	1	**1**
7B	**24**	**No M**	No M	A	A	1	**1**
9A	**913**	**M**	No M	P	A	1	**1**
9B	**1023**	**M**	No M	P	A	1	**1**
11	**485**	**No M**	No M	A	A	1	**1**
12	**261**	**No M**	M	A	P	1	**1**
14	**45**	**No M**	No M	A	A	1	**1**
17	**524**	**M**	M	P	P	1	**1**
18	**740**	**M**	M	P	P	1	**1**
********	**679(*)**	**********		**ND**		**********	
Método utilizado: 6 1- Proporciones en LJ 2- BACTEC 460 3- MGIT 960 4- Nitrato reductasa 5-Xpert MTB/RIF 6-LIPA FL-LPA				**Total resultados correctos**		**19**	**19**
				Verdaderos resistentes		**10**	**11**
				Falsos resistentes		**0**	**0**
				Verdaderos sensibles		**9**	**8**
				Falsos resistentes		**0**	**0**
				Sensibilidad (%)		**100**	**100**
				Especificidad (%)		**100**	**100**
				Eficiencia (%)		**100**	**94,7**
				Reproducibilidad intralaboratorio (%)		**100**	**86**

(*)aislamiento identificado como M. kansasii

(**)no aparecieron los controles CC, AC, Tub, los correspondientes a los locus o para el caso del control negativo aparecen bandas distintas a AC y CC o cuando los controles indican que la prueba es válida, pero las bandas que indican la presencia o ausencia de mutaciones no llegan a tener de la intensidad del control.

Los siguientes tubos son duplicados de una misma cepa y fueron utilizados para evaluar la reproducibilidad intralaboratorio:
(513 y 601); (607 y 447); (535 y 515); (306 y 921); (793 y 284); (556 y 24); (913 y 1023).

CONCLUSIONES

No se verificaron discrepancias de resultados con el método molecular FL-LPA para la detección de Complejo Mycobacterium tuberculosis y la resistencia a rifampicina e isoniacida. Sin embargo, el laboratorio no pudo interpretar el resultado de mutación o no de una muestra del panel.

OBSERVACIONES

.....
Firma del responsable

Anexo G.3. Lista de paneles para control de calidad remitidas al LNR del país XX para la confeccion de los paneles para las pruebas de aptitud

Para el control de calidad de isoniacida y rifampicina (sistema FL-LPA)

			Mutaciones			
Panel PS 12 de QQ18			Rif	INH		1
	Cepa OMS	Cepa N	*rpo* B	*kat* G	*inh* A	País XXX
1A	2426	1092	His526Asn	Ser315Thr	wildtype	831
4A	3268	121	Ser531Leu	wildtype	wildtype	338
14	4646	812	wildtype	wildtype	wildtype	991
6B	7601	1168	wildtype	wildtype	-15T	963
	21454	M kansasii				895

Para el control de calidad de inyectables y quinolonas (sistema SL-LPA)

			Mutaciones				
Panel PS 12 de QQ18			Km / Ak / Cap		Ofx		1
	Cepa OMS	Cepa N	*rrs* S	*eis*	*gyr* A	*gyr* B	País XXX
1A	2426	1092	wildtype	wildtype	Ser91Pro		109
4A	3268	121	wildtype	G -10A	wildtype		125
7A	7132	468	Ala1401Gly	wildtype	Asn533Ser		88
9A	6020	324	wildtype	wildtype	Ala90Val&Ser91Pro		389
	21454	M kansasii					90

Anexo G.4. Información solicitada para control de prueba de sensibilidad

Control de calidad externo de los laboratorios periféricos usuarios de un sistema abierto de amplificación e hibridación reversa (LIPAs) para la detección de *M. tuberculosis* y resistencia a rifampicina e isoniacida(FL-LPA) o a drogas antituberculosis de segunda línea (SL-LPA)

Tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

• Trabajar, para la extracción y carga del DNA, al menos con las mismas normas de bioseguridad que para la manipulación de muestras. Para el resto del proceso tener en cuenta los dos espacios separados que se utilizan en cualquier práctica molecular que utilizan sistemas abiertos de amplificación (preparación de mezcla de amplificación y apertura de productos amplificados)

• Procesar cada tubo como si contuviera una muestra de esputo

• Seguir el protocolo que aplica habitualmente en su laboratorio

• Cada procedimiento debe ser realizado por el o los operadores que habitualmente lo realizan en la rutina

• Completar el formulario adjunto con los resultados y la información solicitada y envíelo por correo a su laboratorio de referencia.

Laboratorio participante:
PANEL Nº
Resultados de las pruebas a Rif y INH:

Muestra	Banda TUB P: presente A: ausente	Resultado M: mutado No M: no mutado			Banda control de locus P: presente A: ausente			Sonda mutada *	Observaciones
	M tuberculosis	RIF	INH		RIF	INH			
		*rpo*B	*kat*G	*inh*A	*rpo*B	*kat*G	*inh*A		

* se debe consignar la mutación detectada que está indicada por la ausencia de banda de tipo silvestre y / o la presencia de una banda mutante para cada grupo de genes.

PANEL Nº

Resultados de las pruebas a inyectables y quinolonas:

Muestra	Banda TUB P: presente A: ausente	Resultado M: mutado No M: no mutado				Banda control de locus P: presente A: ausente				Sonda mutada *	Observaciones
	M tuberculosis	Inyectables		Quinolonas		Inyectables		Quinolonas			
		rrs	eis	*gyrA*	*gyrB*	*rrs*	eis	*gyrA*	*gyrB*		

* se debe consignar la mutación detectada que está indicada por la ausencia de banda de tipo silvestre y / o la presencia de una banda mutante para cada grupo de genes.

1- ¿Para qué tipo de pacientes está aplicando el método en la rutina de trabajo?

.....

.....

.....

2- ¿Realiza un seguimiento de resultados no válidos/indeterminados por usuario?

SI ☐ NO ☐

3- ¿Reporta los resultados no válidos/indeterminados recurrentes al LRN?

SI ☐ NO ☐

Indique el porcentaje de resultados no válidos e indeterminados (por fármaco si correspondiera) obtenido durante el ultimo año.....

4- ¿Ha recibido visitas de supervisión por parte del LNR?

5-¿Ha tenido inconvenientes con los insumos? SI ☐ NO ☐

Si su respuesta es SI marque el tipo de inconveniente

- ☐ falta de stock de tiras (consigne la cantidad de meses)
- ☐ descarte de tiras por falta de uso antes del vencimiento
- ☐ malas condiciones para el almacenaje
- ☐ otro

6-Envíe copia del informe con el resultado de las cepas XX y XX empleando el formato (formulario) empleado en la rutina de trabajo

.....

Firma del responsable

Anexo G.5. Análisis de resultados

	Droga Isoniacida									
	A	B	C	D		E	F	G	M	N
1	20XX		Origen	OMS			Laboratorio XXX		Laboratorio XXX	
2			Round		Resultado		N° codigo	Resultado informado	N° codigo	Resultado informado
3			Control de calidad	1	*kat* G	*inh* A				
4	2426	1A	18	M	Ser315Thr	wildtype	513	20	831	
5	3268	4A	18	W	wildtype	wildtype	535	0	338	
6	4646	14	18	W	wildtype	wildtype	360	20	407	
7	7601	6B	18	M	wildtype	-15T	284	10	963	
8	21454					M kansasii	679	20	20	
9	Puntaje							70		SUMA (N4:N8)
10	Eficiencia							70		N9*100/100

En la misma se expresan las fórmulas que se deberán introducir para cada cálculo teniendo en cuenta las columnas y filas que deben estar implicadas y combinadas. Se recomienda realizar la introducción de todas las fórmulas y una vez confeccionada la planilla incorporar los datos de los resultados de las pruebas.

Dado que estos equipos detectan la resistencia a distintas drogas (primera y segunda línea) se deben hacer tantas solapas como drogas se están controlando.

Organización Panamericana de la Salud

Organización Mundial de la Salud
OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas

ORGANISMO ANDINO DE SALUD - CONVENIO HIPOLITO UNANUE -

SECRETARÍA EJECUTIVA
COMISCA
CONSEJO DE MINISTROS DE SALUD DE CENTROAMÉRICA Y REPÚBLICA DOMINICANA

SICA
Sistema de la Integración Centroamericana