

Guía para la vigilancia de tuberculosis por el laboratorio

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Coordinadora

Claudia Llerena Polo

Subdirectora

Omayda Cárdenas Bustamante

Elaborado por:

Paula Andrea Santander Jiménez

Claudia Llerena Polo

Revisado por:

Omayda Cárdenas Bustamante

Subdirección Laboratorio
Nacional de Referencia

Aprobado por:

Tomás Gilberto Prasca Cepeda

Director Técnico Redes en Salud
Pública

El documento requirió revisión por la Oficina Asesora de Jurídica: SI _ NO X

El documento requirió revisión por una instancia externa asesora: SI X NO _

Instituto de Salud Pública de Chile, Profesionales del área de Micobacterias LSP de Antioquia y Nariño

© Diciembre 2024. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

TABLA DE CONTENIDO.

1.	Objetivo de la Guía.	4
2.	Definiciones y Abreviaturas.	4
2.1	Definiciones	4
2.2.	Abreviaturas, Acrónimos y Siglas.....	8
3	Generalidades.....	10
3.1	Agente Infeccioso.....	11
3.2	Modo de Transmisión.....	11
3.3	Prevención.	11
3.4	Aspectos Clínicos.	12
4.	Lineamientos para el Diagnóstico de Tuberculosis y Micobacteriosis por Laboratorio..	14
5	Diagnóstico de Tuberculosis Activa.	15
5.1	Tipos de Muestras, Recolección y Conservación.	15
5.2	Transporte de Muestras y/o Cultivos.	27
5.3	Documentos para el Envío de Muestras y/o Cultivos.	28
5.4	Identificación de las Muestras y/o Cultivos.....	28
5.5	Recomendaciones de Bioseguridad.	29
5.6	Procesamiento del Cultivo a Partir de Muestras Pulmonares.....	30
5.6.1	Espujo y Espujo Inducido.	31
5.6.2	Aspirado Nasofaríngeo.	33
5.6.3	Aspirado Gástrico o Aspirado Lavado Gástrico.....	33
5.6.4	Lavado Broncoalveolar – BAL.	33
5.6.5	Biopsia Pulmonar.	33
5.6.6	Materia Fecal.	34
5.7	Procesamiento de Cultivo a Partir de Muestras Extrapulmonares.	34
5.7.1	Líquidos Estériles (LCR, Sinovial, Pleural, entre otros).	34
5.7.2	Biopsias Extrapulmonares.	34

www.ins.gov.co



@INSColombia



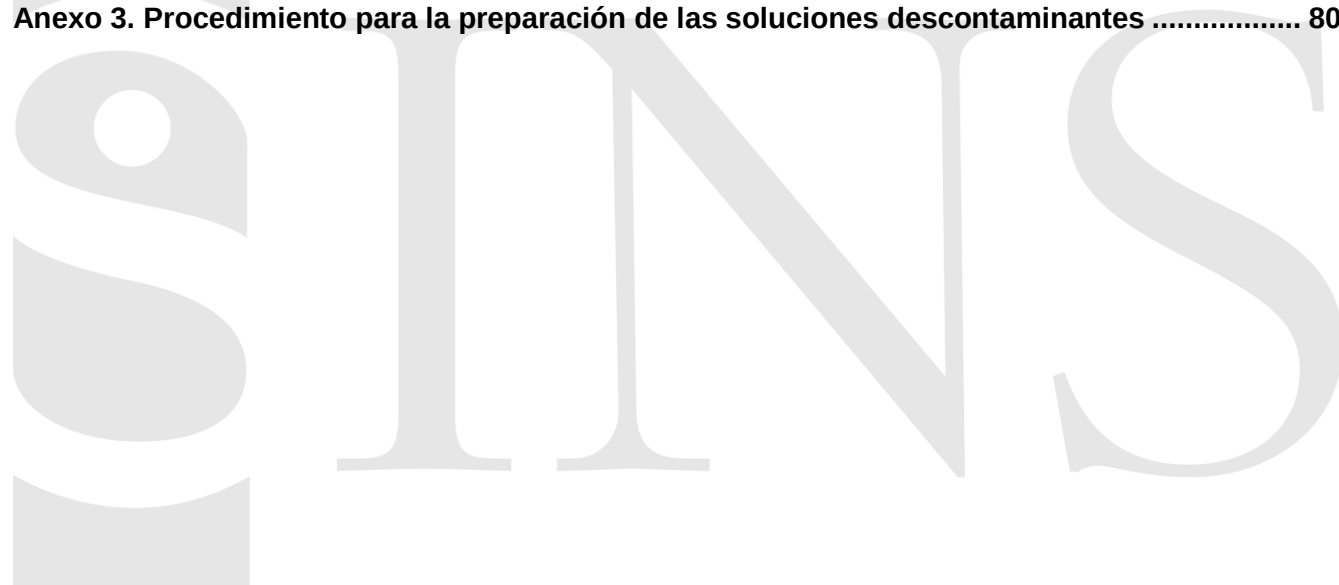
@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

5.7.3	Secreciones o Aspirados de Secreciones.....	35
5.7.4	Orina.	35
5.7.5	Sangre.	35
5.8	Ensayos de Laboratorio Asociados al Diagnóstico y Vigilancia del Evento.....	35
5.8.1	Pruebas Moleculares.....	37
5.8.2	Técnicas de Secuenciación.....	39
5.8.3	Cultivo en Medio Líquido.	40
5.8.4	Pruebas de identificación de Micobacterias.	46
5.8.5	Otros métodos de apoyo diagnóstico en tuberculosis activa.	47
5.8.5.1	LF-LAM Prueba de flujo lateral lipoarabinomanano en orina (LF – LAM).....	47
5.8.5.2	Adenosina Deaminasa (ADA).	47
5.9	Pruebas de Sensibilidad a Fármacos Antituberculosis.....	47
5.9.1	Técnica de Bactec™ MGIT™.....	48
5.9.2	Otras Técnicas de Sensibilidad a Fármacos.	48
6	Diagnóstico de tuberculosis latente.....	49
6.1	Prueba de Tuberculina (PT).	49
6.2	Ensayos de Interferón Gamma (IGRA).	51
7.	Pruebas para el control del tratamiento de tuberculosis activa por laboratorio.....	52
7.1	Baciloscopia.	52
7.1.1	Tinción de Ziehl Neelsen.....	55
7.1.2	Control de Calidad de las Técnicas de Coloración.	58
7.2	Cultivo.....	60
8	Control de Calidad.....	61
8.1	Control de Calidad Interno (CCI).	61
8.2	Control de Calidad Externo (CCE).....	65
9	Vigilancia de los Agentes Infecciosos.	67
9.1	Vigilancia de la Farmacorresistencia.	67
9.2	Vigilancia de las Micobacterias no Tuberculosas.....	67
9.3	Indicadores Bacteriológicos.....	68

10 Estructura y funciones de la Red Nacional de Laboratorios para la vigilancia de tuberculosis.....	69
10.1 Funciones del LNR.....	69
10.2 Funciones del LSP.....	70
10.3 Funciones de los Laboratorios Públicos y Privados o Referentes para el Evento en el Nivel Municipal y/o Local según Corresponda.....	71
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	73
ANEXOS.....	78
Anexo 1. Métodos de procesamiento de heces para el diagnóstico de TB infantil.....	78
Anexo 2. Solicitud de Exámenes LNR de Micobacterias INS.....	79
Anexo 3. Procedimiento para la preparación de las soluciones descontaminantes.....	80



1. Objetivo de la Guía.

Describir los procesos de obtención, recolección, procesamiento, transporte, conservación de muestras, las técnicas disponibles para el diagnóstico de tuberculosis y micobacteriosis, el seguimiento de las personas en tratamiento y los lineamientos técnicos para la vigilancia por el laboratorio que se articulan con todos los integrantes de la Red Nacional de Laboratorios.

2. Definiciones y Abreviaturas.

2.1 Definiciones

Ácido desoxirribonucleico (ADN): ácido nucleico que contiene instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos conocidos, es responsable de su transmisión hereditaria.

Adenosina deaminasa (ADA): enzima involucrada en los procesos de respuesta inmune asociados con linfocitos.

Aminoglucósidos (AG): grupo de antibióticos bactericidas, entre estos se encuentran la Kanamicina y Amikacina.

Bacilos Ácido Alcohol Resistentes (BAAR): bacilos que contienen en su pared celular ácidos micólicos, péptidos y glicolípidos capaces de retener la fucsina, posterior a la decoloración con alcohol ácido.

Bedaquilina (Bdq): es una dýaril quinolona que actúa inhibiendo la acción de la ATP sintetasa de las micobacterias; bactericida efectivo para el tratamiento de la tuberculosis.

Botella de cultivo BACT//ALERT® MP: medio de cultivo líquido Middlebrook 7H9 que permite el crecimiento de micobacterias en el sistema automatizado BacT ALERT MP, en cuyo fondo se encuentra un sensor colorimétrico permeable al gas.

Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos: código de laboratorio básico de práctica aplicable a todo tipo de actividades que se realizan cuando se manipulan agentes biológicos, incluyendo comportamientos generales y técnicas asépticas que siempre deben ser observadas en el laboratorio. Este código sirve para proteger al personal del laboratorio y a la comunidad de infecciones, prevenir la contaminación del medio ambiente y brindar protección a los materiales de trabajo usados en los procedimientos.

Cabina de seguridad biológica (CSB): espacio de trabajo cerrado y ventilado diseñado para brindar protección al operador, el entorno del laboratorio y/o los materiales de trabajo para actividades en las que existe un peligro de generación de aerosoles. La contención se logra mediante la segregación del

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

trabajo del área principal del laboratorio y/o mediante el uso de mecanismos de flujo de aire controlados y direccionales. El aire de escape pasa a través de un filtro de partículas de alta eficiencia (HEPA) antes de recircular al laboratorio al sistema de calefacción, ventilación o aire acondicionado.

Clofazimina (Cfz): antibiótico bacteriostático que inhibe la replicación del ADN de las micobacterias.

Controles de ingeniería: medidas de control de riesgos que están integradas en el diseño de un laboratorio o un equipo para contener los peligros, minimizar el riesgo de exposición y/o liberación involuntaria de agentes biológicos.

Cultura de seguridad: conjunto de valores, creencias y patrones de comportamiento inculcados y facilitados en una atmósfera abierta y de confianza por personas y organizaciones que trabajan juntas para apoyar o mejorar las prácticas para la bioseguridad en el laboratorio, independientemente de si está estipulado en los códigos de práctica y/o regulaciones aplicables.

Delamanid (Dlm): antibiótico bactericida que inhibe la síntesis de los ácidos micólicos de la pared celular de las micobacterias.

Equipo de Protección Personal (EPP): conjunto de elementos que usa el personal para proporcionar una barrera contra los agentes biológicos, minimizando así la probabilidad de exposición. El EPP incluye batas de laboratorio, trajes de cuerpo entero, guantes, calzado protector, gafas de seguridad, máscaras, respiradores, entre otros.

Evaluación de riesgos: proceso sistemático de recopilación de información y evaluación de la probabilidad y consecuencias de la exposición o liberación de peligros en el lugar de trabajo y determinación de las medidas de control adecuadas para reducir el riesgo a un nivel aceptable.

Fluoroquinolonas (FQ): son agentes antimicrobianos sintéticos que actúan en la actividad de la ADN girasa, enzima necesaria para la replicación del ADN, dentro de estos se encuentra la levofloxacina y moxifloxacina.

Gen: secuencia de nucleótidos en una molécula de ADN que desempeña una función específica.

Gen *ahpC-oxvR*: gen que regula la región Enoyl-ACP reductasa dependiente de NADH; la presencia de mutaciones en este gen confiere resistencia a isoniácida.

Gen *eis*: gen que codifica la enzima acetiltransferasa; su mutación confiere resistencia de bajo nivel a la kanamicina.

Gen *fabG1*: este gen participa en la vía de síntesis de ácidos grasos, actuando en el primer paso de reducción del ácido micólico; su mutación está asociada con la resistencia a la isoniácida.

Gen *gyrA*: gen que codifica la subunidad A de la ADN girasa; las mutaciones específicas en este gen confieren resistencia a fluoroquinolonas.

Gen *gyrB*: gen que codifica la subunidad β de la ADN girasa; algunas mutaciones en este gen confieren resistencia a fluoroquinolonas.

Gen *inhA*: gen que codifica la enzima NADH eonil ACP reductasa; mutaciones en su región promotora confieren resistencia de bajo nivel a la isoniácida.

Gen *katG*: gen que codifica la enzima catalasa peroxidasa; su mutación confiere resistencia de alto nivel a la isoniácida.

Gen *rpoB*: gen que codifica la subunidad β de la enzima ARN polimerasa; su mutación confiere resistencia a la rifampicina.

Gen *rrs*: gen que codifica el 16S rRNA; su mutación confiere resistencia a aminoglucósidos/péptidos cíclicos.

Isoniácida (H): es la hidracida del ácido isonicotínico, considerada como el mejor bactericida antituberculoso, debido a que actúa inhibiendo la síntesis de los ácidos micólicos de la pared celular de las micobacterias.

Levofloxacin (Lfx): Fluoroquinolona el isómero L de la ofloxacin, antibiótico bactericida que inhibe la topoisomerasa IV y la ADN-girasa bacteriana.

Linezolid (Lzd): antibiótico sintético del grupo de las oxazolidinonas fluoradas; inhibe la iniciación de la síntesis de proteínas bacterianas.

Medio de cultivo: combinación sólida o líquida de nutrientes y agua, con sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, entre otros, estos favorecen el desarrollo in vitro de microorganismos.

Medio de cultivo de Löwenstein-Jensen (LJ): medio a base de huevo utilizado para el estudio de micobacterias, contiene glicerol y L-asparagina como fuente de carbono y nitrógeno respectivamente.

Micobacterias: microorganismos aerobios facultativos que cubren sus requerimientos de energía por la oxidación completa de glucosa o glicerol a dióxido de carbono y agua.

Moxifloxacin (Mfx): fluoroquinolona de acción bactericida que inhibe la subunidad A de la ADN girasa, esencial para la duplicación del ADN bacteriano.

Mutación: cambio de una forma alélica u otra que experimenta un gen y que es heredable en la secuencia del ADN de un cromosoma.

***Mycobacterium*:** género de bacterias de la familia *Micobacteriaceae*; son bacilos delgados, rectos o ligeramente curvos e inmóviles.

***Mycobacterium tuberculosis*:** micobacteria perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis.

Organización Mundial de la Salud (OMS): es la entidad de la Organización de las Naciones Unidas especializada en gestionar políticas de prevención, promoción e intervención en salud a nivel mundial.

Organización Panamericana de la Salud (OPS): es el organismo especializado de salud del sistema interamericano, encabezado por la Organización de Estados Americanos dedicada a controlar y coordinar políticas que promuevan la salud y el bienestar en los países americanos.

Pretomanid: es un fármaco derivado de la nitroimidazooxazina, inhibe activamente la replicación del *M. tuberculosis* mediante la inhibición de la biosíntesis de ácido micólico, bloqueando así la producción de la pared celular.

Programa de Evaluación Externa del Desempeño (PEED): evaluación comparativa, periódica y objetiva de los resultados de diferentes laboratorios por medio del envío de muestras ciegas, de la cual se genera un informe de resultados. Permite a los laboratorios participantes evaluar continuamente su calidad, realizar una comparación de sus resultados y monitorear su desempeño.

Reacción en cadena de la polimerasa: técnica de biología molecular cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular.

Requisitos básicos de Bioseguridad: combinación de medidas de control de riesgos que son la base y una parte integral de la bioseguridad del laboratorio. Estas medidas reflejan los estándares internacionales y las mejores prácticas en bioseguridad que son necesarias para trabajar de manera segura con agentes biológicos, incluso cuando los riesgos asociados son mínimos.

Rifampicina (R): componente semisintético derivado de *Amycolatopsis rifamycinica* (previamente conocido como *Amycolatopsis mediterranei* y *Streptomyces mediterranei*); actúa bloqueando la síntesis del ARN mensajero inhibiendo la ARN polimerasa, su acción es bactericida.

Secuenciación: técnica que permite determinar el orden exacto de los nucleótidos (Adenina, Guanina, Timina y Citosina AGTC) en una fracción o en todo el genoma de un organismo.

Secuenciación de Nueva Generación (NGS por sus siglas en inglés): técnica de alto rendimiento que se usa para determinar la secuencia de nucleótidos en una única reacción bioquímica, se obtienen secuencias de múltiples fragmentos de ADN en paralelo, éstas se ensamblan y se comparan en los softwares bioinformáticos para investigar si hay cambios en comparación con las secuencias de referencia.

Secuenciación dirigida de Nueva Generación (NGSt por sus siglas en inglés): técnica que usa los datos de NGS para determinar las secuencias de nucleótidos en regiones específicas del genoma.

Tuberculosis con Resistencia a Rifampicina (TB-RR): tuberculosis causada por una cepa del complejo *M. tuberculosis* resistente a rifampicina.

Tuberculosis Extensamente Fármaco Resistente (TB-XDR): tuberculosis causada por una cepa del complejo *M. tuberculosis* que cumple la definición de TB-MDR/RR y que también es resistente a

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

cualquier FQ y, al menos a un fármaco adicional del Grupo A Linezolid (Lzd) y/o bedaquilina (Bdq) definido por la OMS.

Tuberculosis Multi-Fármaco-Resistente (TB-MDR): tuberculosis causada por una cepa del complejo *M. tuberculosis* resistente al menos a rifampicina (R) e Isoniacida (H).

Tuberculosis Pre Extensamente Fármaco Resistente (Pre-XDR): tuberculosis causada por una cepa del complejo *M. tuberculosis* que cumple la definición de TB-MDR/RR y que también es resistente a cualquier FQ (levofloxacina y/o moxifloxacina).

Tubo Indicador de Crecimiento de Micobacterias (MGIT por sus siglas en inglés): medio de cultivo líquido Middlebrook 7H9 que permite el crecimiento de micobacterias en el sistema automatizado BACTEC™ MGIT™, en cuyo fondo se encuentra un tapón de silicona que contiene un compuesto fluorescente.

2.2. Abreviaturas, Acrónimos y Siglas.

ADA: Adenosina deaminasa.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AM: Amikacina.

ATCC®: American Type Culture Collection.

BAAR: Bacilos Ácido Alcohol Resistentes.

BCG: Bacilo de Calmette-Guérin, es una vacuna contra la tuberculosis.

Bdq: Bedaquilina.

Cfz: Clofazimina.

CMTB: complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

CSB: Cabina de Seguridad Biológica.

CUPS: Código Único de Prestación de Servicios.

EAPB: Entidades Administradoras de Planes de Beneficio.

EED: Evaluación Externa del Desempeño.

EEDD: Evaluación Externa del Desempeño Directa.

EEDI: Evaluación Externa del Desempeño Indirecta.

EPP: Elementos de Protección Personal.

FFP2: Eficacia de filtración P2.

FQ: Fluoroquinolonas.

HEPA: "High Efficiency Particle Arresting" por sus siglas en inglés, en español filtro de aire de partículas de alta eficiencia.

H: Isoniacida

ILTB: Infección Latente por Tuberculosis

INH: Isoniacida.

INS: Instituto Nacional de Salud.

LAM: Lipoarabinomano.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

LC: Laboratorio Clínico.
LJ: Löwenstein Jensen.
LNR: Laboratorio Nacional de Referencia.
LSP: Laboratorio de Salud Pública Departamental o Distrital.
Lfx: Levofloxacin.
Lzd: Linezolid.
Mfx: Moxifloxacin.
MGIT: Tubo Indicador de Crecimiento de Micobacterias.
MNT: Micobacterias No Tuberculosas.
MSPS: Ministerio de Salud y Protección Social.
MTB: *Mycobacterium tuberculosis*.
NALC: N-acetil-L-cisteína.
NaOH: Hidróxido de sodio.
NGS: Secuenciación de Nueva Generación
NGSt: Secuenciación dirigida de Nueva Generación
OMS: Organización Mundial de la Salud.
OPS: Organización Panamericana de la Salud.
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.
PEED: Programa de Evaluación Externa del Desempeño.
PNPCT: Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis.
POE: Procedimiento Operativo Estándar.
PSF: Prueba de Sensibilidad a Fármacos.
POS: Plan Obligatorio de Salud.
PPL: Persona Privada de la Libertad.
PT: Prueba de Tuberculina
R: Rifampicina.
RIF: Rifampicina.
RNL: Red Nacional de Laboratorios.
SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.
SR: Sintomático Respiratorio.
SIVIGILA: Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública.
TB: Tuberculosis.
TB - MDR: Tuberculosis - Multi-Fármaco Resistente.
TB - PRE-XDR: Tuberculosis - Pre - Extensamente Fármaco Resistente.
TB - RR: Tuberculosis - Resistente a Rifampicina.
TB - XDR: Tuberculosis - Extensamente Fármaco Resistente.
UC: Unidades de Crecimiento.
UFC: Unidades Formadoras de Colonias.
VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
ZN: Ziehl Neelsen.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

3 Generalidades.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infectocontagiosa crónica producida por el complejo *M. tuberculosis*, presenta diversas manifestaciones clínicas y una amplia distribución mundial, siendo la principal causa de muerte por enfermedad infecciosa en el mundo; aproximadamente una cuarta parte de la población está infectada por este microorganismo, a pesar de esto, es una enfermedad prevenible y por lo general curable (1).

En 2023 la TB causó casi el doble de muertes que el VIH/SIDA. Más de 10 millones de personas por año en el mundo se siguen enfermando con este patógeno, lo que se hace necesario tomar medidas urgentes para poner fin a la epidemia como se tiene previsto en un objetivo adoptado por todos los Estados Miembros de las Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1, 2).

En 2023 el número notificado de personas diagnosticadas con TB fue de 8,2 millones, se trata de la cifra más alta para un solo año desde que la OMS comenzó a recopilar datos de todos los países y zonas a mediados de la década de 1990, frente al récord anterior de 7,5 millones en 2022 y un 15% más que el nivel pre-pandémico de 7,1 millones en 2019. Estos dos años de niveles récord de casos notificados, siguen a dos años de interrupciones en los servicios de salud relacionados con la pandemia por SARS-CoV2, cuando las cifras cayeron considerablemente incluso por debajo de los niveles pre-pandémicos, especialmente en 2020 (reducción global del 18%, a 5,8 millones) antes de una recuperación parcial en 2021 a 6,4 millones) (1).

Las cifras históricamente altas de 2022 y 2023 muestran que ha habido una fuerte recuperación mundial en la prestación de los servicios de salud, el acceso al diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis. Es probable que también reflejen otros dos factores relacionados con el diagnóstico tardío de personas que desarrollaron la enfermedad en años anteriores, situación generada por la pandemia y un aumento en general de las personas que desarrollan esta enfermedad (1).

En Colombia de acuerdo con los datos del SIVIGILA, para el año 2023 se notificaron 19.675 casos, lo que representa un incremento si se compara con 2019 con 14.902 casos reportados, el aumento es del 12,5% respecto a los 17,495 casos de 2022. Las entidades territoriales con las tasas de incidencia más altas son: Amazonas (76,42 por 100.000 habitantes), Barranquilla (70,79 por 100.000 habitantes), Cali (69,15 por 100.000 habitantes), Caquetá (58,35 por 100.000 habitantes) y Risaralda (58,11 por 100.000 habitantes). La mayor carga de enfermedad se concentra en las regiones del Eje Cafetero y Antioquia (26,9%), Andina (26,7%) y Caribe (20,7%), destacándose las entidades territoriales de Antioquia (20,3%), Cali (8,5%) y Bogotá D.C. (7,5%) (3).

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

3.1 Agente Infeccioso.

El complejo *Mycobacterium tuberculosis* está conformado por varias especies dentro de las cuales se encuentra el *Mycobacterium tuberculosis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. suricattae*, *Chimpanzee bacillus*, entre otras. Estas micobacterias son bacilos largos, de 3 a 5 μm de longitud, inmóviles, no esporulados y con abundantes gránulos citoplasmáticos; su pared contiene una elevada proporción de lípidos y es muy rica en ácidos micólicos, que le confieren la característica ácido-alcohol resistente. Son aerobios facultativos, la gran mayoría cubre sus requerimientos de energía por la oxidación completa de glucosa o glicerol a dióxido de carbono y agua, son prototróficas para todos los aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas del complejo B (4 – 6).

3.2 Modo de Transmisión.

En la TB causada por *M. tuberculosis* el principal reservorio es el hombre que puede presentar o no la enfermedad; la vía de transmisión más común es la aérea, a través de la cual las personas diseminan los bacilos al hablar, toser, cantar, reír o estornudar, produciendo la eliminación de microgotas en forma de aerosoles. Adicionalmente, el ganado bovino es un reservorio que transmite TB por *M. bovis*, considerada una importante zoonosis en varias regiones del mundo; la infección es adquirida por contacto directo e indirecto con bovinos y sus secreciones, por el consumo de productos lácteos no pasteurizados, por la inhalación por vía aerógena ya sea a través del contacto con animales enfermos o aerosoles producidos mediante heridas abiertas y, por consumo de carne cruda o mal cocida. Esta TB es una enfermedad laboral para trabajadores rurales, granjeros, veterinarios y manipuladores en la industria frigorífica (5 – 7).

El tiempo de incubación es indefinido, se estima que entre 2 y 10 semanas puede aparecer una lesión primaria demostrable o una reacción tuberculínica significativa producida por la infección, sin embargo, en algunas personas el bacilo puede permanecer latente toda la vida sin presentarse ninguna manifestación de enfermedad. Factores como la viabilidad, transmisibilidad y virulencia del bacilo aumentan el riesgo de infección y el desarrollo de la enfermedad (6).

Respecto al huésped se sabe que el riesgo es variable según el estado inmune de la persona, la susceptibilidad genética, la duración e intensidad de la exposición a la micobacteria y la interacción bacilo – huésped (6).

3.3 Prevención.

La mejor forma para prevenir la TB es curar a todos los casos contagiosos proporcionando un tratamiento adecuado, es decir actuando directamente sobre las fuentes de infección, esto incluye a las personas que tienen la enfermedad latente, en ambos casos el tratamiento se hace de acuerdo con lo definido por el Programa Nacional de Prevención y Control de Tuberculosis (PNCPT). Para disminuir las formas graves de la enfermedad y las tasas de mortalidad que se presentan en los niños recién nacidos,

la prevención se hace a través de la vacunación temprana con el Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) (6, 8).

3.4 Aspectos Clínicos.

La forma más común de la enfermedad es la pulmonar, el principal síntoma es la presencia de tos con o sin expectoración por más de 15 días, que es como se define al sintomático respiratorio (SR) en población general mayor de 15 años, otros síntomas son sudoración nocturna, pérdida de peso, disnea, entre otros. Las manifestaciones clínicas pueden variar según la edad, el estado inmunológico y la presencia de comorbilidades. El hallazgo de estos signos y síntomas debe sugerir al clínico una tuberculosis y se deben ordenar los exámenes de diagnóstico definidos en los algoritmos del PNCPT (6, 8).

La TB puede afectar otros órganos como la pleura, ganglios linfáticos, abdomen, tracto genitourinario, piel, articulaciones, huesos o meninges; en estos casos los síntomas dependerán de la parte afectada, a este tipo de tuberculosis se le denomina TB extrapulmonar (6, 8).

Existen algunos grupos de personas que tienen mayor riesgo de padecer esta enfermedad, dentro de estos se encuentran aquellas que padecen Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), desnutrición, consumidores de tabaco, patologías o tratamientos inmunosupresores, entre otros. En las personas que viven con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) los síntomas varían de acuerdo con su estado inmunológico y el recuento de linfocitos, en estos casos se pueden presentar formas de TB atípicas de difícil diagnóstico, los síntomas son tos con o sin expectoración, fiebre, pérdida de peso, sudoración nocturna de cualquier duración, entre otros, el médico debe sospechar una tuberculosis, es primordial que de forma rutinaria se haga la revisión de estas manifestaciones en búsqueda de los casos. En este grupo de personas la forma extrapulmonar es más frecuente (6, 8).

Los menores de 15 años también tienen mayor riesgo de enfermar por TB, la presentación de la clínica es diferente debido a que los síntomas pueden ser escasos o ausentes tanto en la forma pulmonar como extrapulmonar, aun cuando se observan alteraciones radiológicas. Dentro de estas manifestaciones tenemos tos con o sin expectoración mayor de 15 días, fiebre de más de ocho días de evolución, pérdida o no ganancia de peso en los tres meses precedentes, disminución del nivel de actividad o juego, e historia de contacto con caso de TB, ante la presencia de estos signos el clínico debe solicitar los exámenes de laboratorio definidos en los algoritmos diagnósticos (6, 8).

La desnutrición aumenta la susceptibilidad a la enfermedad; esto se debe a que al producirse la infección se requiere una mayor demanda de energía metabólica para dar respuesta corporal y en la persona se producen cambios en el metabolismo de los macronutrientes, en otras palabras, esto ocasiona un círculo vicioso sinérgico del estado nutricional adverso. Existen reportes en los que se relaciona un mayor riesgo de muerte entre los pacientes de TB y bajo peso; la malnutrición no sólo está asociada a la desnutrición y la hipernutrición, sino también a afecciones derivadas de desequilibrios dietéticos (9).

Se ha identificado que las personas que tienen diabetes tienen un mayor riesgo de activar la infección latente y contraer la enfermedad, el manejo de estos casos es complicado debido a que este trastorno metabólico interfiere en la asimilación de los fármacos antituberculosis (8, 10).

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

Colombia ha establecido otros grupos prioritarios para la búsqueda de casos de TB como: Personas Privadas de la Libertad (PPL), grupos étnicos, habitantes de calle, trabajadores de la salud, población que habita en zona rural o rural dispersa, en estos grupos los síntomas que se deben investigar son tos con o sin expectoración de cualquier duración en el tiempo (8).

Debido a que los síntomas de TB son similares a los de otras patologías, es necesario hacer el diagnóstico diferencial de neumonía, histoplasmosis, asbestosis con efusión pleural, cáncer de pulmón, linfoma, sarcoidosis, endocarditis, nocardiosis, enfermedad pulmonar ocasionada por Micobacterias No Tuberculosas (MNT), entre otras (6, 8).

INS

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

4. Lineamientos para el Diagnóstico de Tuberculosis y Micobacteriosis por Laboratorio.

Debido a que en la actualidad existen varias plataformas diagnósticas que permiten la detección de múltiples patógenos mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), es fundamental que los laboratorios que cuentan con estas técnicas realicen una evaluación de riesgo como lo sugiere el manual de Bioseguridad para los laboratorios de la OMS y con base en este análisis, establezcan los protocolos para hacer uso seguro de estos equipos en la detección del complejo *M. tuberculosis* y la resistencia a fármacos antituberculosis (11).

El INS a través del Programa de Ensayos de Aptitud en Micobacterias realiza anualmente el control de calidad para todos los laboratorios de la red que ofertan este tipo de pruebas, este es gratuito de participación obligatoria (12).

Los algoritmos diagnósticos actuales del PNCPT hacen referencia al uso de pruebas moleculares y cultivo en medio líquido técnicas que se encuentran en la Clasificación Única de Procedimientos en Salud (CUPS) a cargo del Plan de Beneficios. Las Empresas Administradoras de Planes de Beneficio (EAPB) deben contratar estos exámenes con la red de prestadores que a nivel local tiene estas metodologías a través de un paquete que incluya PCR y cultivo, asegurando así la disponibilidad cerca de sus usuarios y en una única institución lo que favorece la captación oportuna de casos, adicionalmente contratar con la red local evita el traslado de muestras que compromete la calidad técnica y la oportunidad de los resultados, para pruebas moleculares el tiempo de reporte es de máximo 48 horas contadas desde la recepción de la muestra, en el caso del cultivo el tiempo varía por diferentes circunstancias pero la correcta conservación de las muestras impacta directamente en el reporte final (8, 13, 14).

Los LSP tienen la obligación de verificar que los laboratorios de su red registren en REDLAB la oferta de pruebas para diagnóstico de TB acorde con los algoritmos diagnósticos y que cuenten con la capacidad instalada en el territorio asegurando de esta forma la disponibilidad in situ de las mismas y la infraestructura para su realización, así mismo realizarán la evaluación de estándares de calidad acorde con los lineamientos del INS (15, 16).

Teniendo en cuenta que la sospecha de tuberculosis inicia con la evaluación de signos y síntomas que definen un caso presuntivo, las Secretarías de Salud deben reforzar el mensaje a los prestadores de servicios de salud para que en el momento de la identificación de estos se cumpla con lo establecido en los algoritmos diagnósticos vigentes (8).

En poblaciones rurales dispersas y grupos étnicos las EAPB y las redes de servicios de salud en estas zonas deben contratar laboratorios que cuenten con metodologías moleculares portátiles de diagnóstico molecular, estas ya se encuentran disponibles en el país, su uso favorece la detección oportuna de casos en especial cuando el contacto con estas poblaciones es limitado por temas como el acceso a servicios de salud (8).

5 Diagnóstico de Tuberculosis Activa.

5.1 Tipos de Muestras, Recolección y Conservación.

Las muestras se clasifican por su origen en pulmonar o extrapulmonar y por el contenido de microbiota asociada en estériles y contaminadas.

Tabla 1. Clasificación de las muestras para diagnóstico de tuberculosis

Contenido de microbiota asociada	Origen
Muestras contaminadas Por su origen contienen microbiota asociada y deben ser descontaminadas antes de realizar el cultivo. Estas son: Espujo, lavado gástrico, lavado broncoalveolar, secreciones, secreción traqueal biopsia de piel, orina y materia fecal.	Muestras pulmonares Se originan en el parénquima pulmonar o en el árbol laringotraqueal o bronquial. Estas son: Espujo, lavado bronquial o broncoalveolar, aspirado o lavado gástrico, biopsia de pulmón y materia fecal para los niños menores de 5 años que ingieren sus espustos.
Muestras estériles Por su origen no contienen microbiota asociada y no requieren ser descontaminadas antes de realizar el cultivo. Estas son: Líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico o peritoneal, líquido sinovial o articular, líquido pericárdico, sangre y biopsias de cavidad cerrada.	Muestras extrapulmonares Se originan en otros órganos diferentes a los pulmones. Estas son: Líquidos o biopsias de origen pleural, meníngea, ganglionar, peritoneal, renal, osteoarticular, intestinal, genitourinaria, pericárdica y cutánea.

Para realizar el cultivo, las muestras contaminadas se deben someter a un proceso de descontaminación que tiene por objeto eliminar la microbiota asociada y en aquellas que son mucoides como el esputo permite homogenizar. Si en un espécimen estéril se sospecha la presencia de contaminación bien sea por la observación de turbidez, pus o color anormal este se debe procesar como una muestra contaminada.

Es fundamental que la recolección de muestras se haga acorde con lo descrito en este documento; la conservación en refrigeración aumentará la probabilidad diagnóstica de los casos, procesarlas en el menor tiempo posible desde su recolección favorece la viabilidad de los BAAR, incluso cuando son especímenes multibacilares, esto además reduce la probabilidad de contaminación del cultivo; cuando esto no se tiene en cuenta y el tiempo entre la recolección y el procesamiento es prolongado la posibilidad de aislar las micobacterias se reduce, especialmente en muestras paucibacilares, la microbiota asociada se multiplica produciendo desnaturalización de las proteínas y por ende hay destrucción del bacilo (14, 17, 18).

Debido a que estos dos parámetros son críticos en la obtención de resultados, los laboratorios deben establecer los criterios de rechazo de muestras en aquellos casos en que no se cumpla con el tiempo y la temperatura de conservación (14, 17, 18).

Los recipientes para la recolección de las muestras de esputo deben ser proporcionados por los laboratorios en el momento en que se le brindan a la persona las indicaciones para la recolección de las muestras, las especificaciones de éstos se presentan en la Figura 1 (8).

Figura 1. Recipiente para la recolección de muestras de esputo.

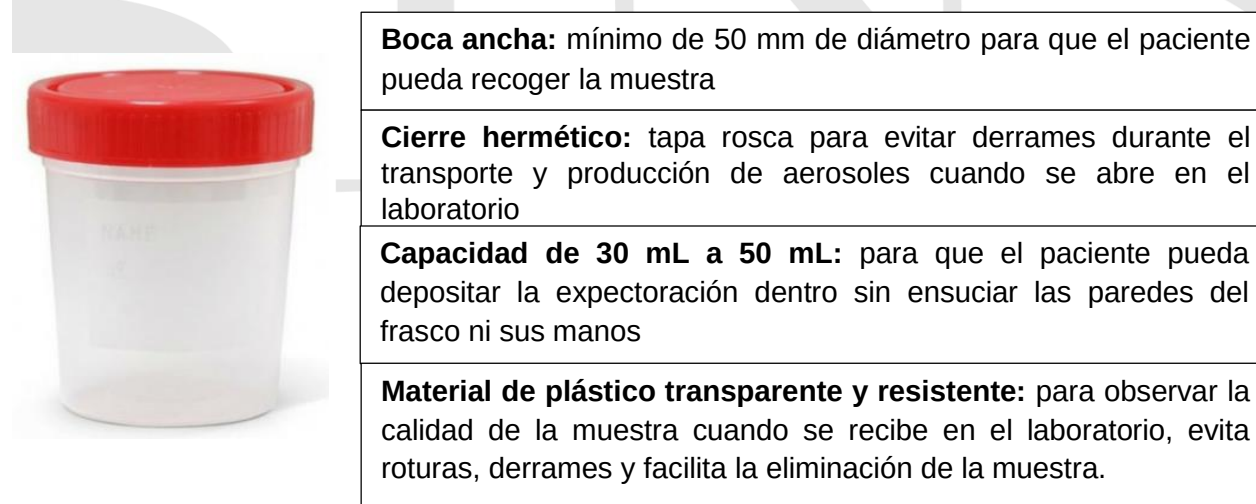


Imagen tomada de: <http://glassgowmc.com/producto/frascos-colectores-de-muestra-de-esputo/>

A continuación, en las tablas 2, 3 y 4 se describen los procesos de recolección de muestras.

Tabla 2. Recolección y conservación de muestras de esputo y esputo inducido (13, 14, 17 – 21).

Muestra, número y volumen	Recolección	Conservación
Espeto Se deben recolectar tres muestras. La persona debe expectorar de tres a cinco veces dentro del recipiente hasta obtener un volumen de 3 a 5 mL de esputo.	Las muestras deben ser recolectadas así: • La primera en el momento de detección de la persona con TB presuntiva • La segunda al día siguiente cuando la persona se despierta (primera de la mañana) • La tercera al momento de la entrega de la segunda muestra. Solicitar al paciente la muestra de esputo utilizando la palabra con la que el paciente la identifica (gargajo, del fondo del pecho, desgarró, entre otros) La persona debe recolectar la muestra en un sitio ventilado que ofrezca privacidad puede ser una habitación o un lugar abierto no concurrido del establecimiento de salud. En caso de no contar con este espacio, se debe garantizar la recolección de las muestras en el domicilio del paciente, realizando seguimiento para asegurar que lleguen al laboratorio en los tiempos y condiciones establecidas en este documento y evitar pérdida de oportunidad de captación del paciente. Las indicaciones que se deben dar a las personas son: • Inspirar profundamente llenando sus pulmones con tanto aire como sea posible. • Retener el aire un momento. • Expulsar el esputo con un esfuerzo de tos, tratando de arrastrar las secreciones del pulmón. • Recoger la muestra producida dentro del envase. • Repetir este ejercicio de tres a cinco veces colocando todas las secreciones en el mismo frasco.	Procesar inmediatamente. En caso de que no sea posible, se puede conservar a temperatura de refrigeración (2°C a 8°C) hasta por cinco días contados a partir de la recolección de la muestra por el paciente.

Muestra, número y volumen	Recolección	Conservación
	• Limpiar el exterior del envase. • Lavar las manos con agua corriente y jabón. • Llevar los envases al laboratorio debidamente identificados con los datos del paciente (nombre, identificación, fecha y hora de recolección). Las personas que viven en áreas de difícil acceso, las muestras se pueden recoger el mismo día con intervalo de al menos una hora, cumpliendo con los requisitos de volumen y calidad descritos en este documento.	
Espujo inducido Se deben obtener tres muestras seriadas en días consecutivos, con el fin de aumentar la posibilidad diagnóstica. En el proceso de recolección se debe obtener un volumen de 3 a 5 mL de muestra.	Es la muestra de elección para las personas o niños que no pueden expectorar. Consiste en fluidificar las secreciones mediante nebulización con solución salina hipertónica 3 – 5% y facilitar su drenaje. El procedimiento lo deben hacer profesionales en terapia respiratoria o enfermería entrenados utilizando elementos de protección personal (EPP), incluido el respirador N95 – N100. Se debe realizar en un sitio con buena ventilación debido que el procedimiento genera riesgo de infección por aerosoles. • Iniciar con la higiene de la cavidad oral con enjuague bucal libre de alcohol, en niños esto generalmente se hace con una gasa. Aplicar 200 mg de salbutamol mediante inhalo cámara; esperar 15 minutos. • Nebulizar con 5 CC de solución salina hipertónica 3 al 5% a temperatura ambiente (no superior a la corporal) durante 10 minutos y a un flujo de 6 a 8 litros/minuto. • Si el paciente empieza a toser, iniciar la recolección de la muestra.	Si la muestra proviene de un adulto, lo ideal es procesar inmediatamente. En caso de que no sea posible se debe conservar en refrigeración (2°C a 8°C) hasta por cinco días contados a partir de la recolección. Si la muestra proviene de un menor de edad se debe procesar inmediatamente. En caso contrario se debe conservar en refrigeración (2°C a 8 °C) hasta por 24 horas contadas desde el momento de la recolección.

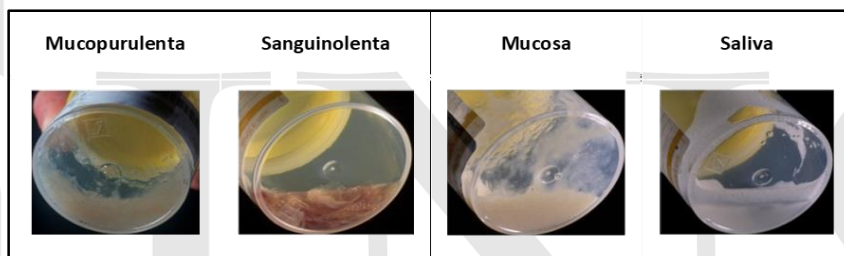
Muestra, número y volumen	Recolección	Conservación
	• El niño grande y el adulto deben ser instruidos para que expectoren cuando tosan. En el niño más pequeño que no puede expectorar se recomienda realizar adicionalmente un aspirado nasofaríngeo. • Si después de 30 minutos no se ha obtenido la suficiente muestra se pueden repetir hasta tres ciclos descansando 30 minutos en cada uno. • Enviar las muestras al laboratorio para su procesamiento, debidamente identificadas con los datos del paciente (nombre, identificación, fecha y hora de recolección).	

Evaluación de la Calidad Macroscópica de la Muestra de Esputo para Diagnóstico.

Para realizar el diagnóstico de tuberculosis una buena muestra de esputo debe ser mucopurulenta proveniente de árbol bronquial, generalmente es espesa y mucoide, aunque puede ser fluida con partículas de material purulento. El color puede ser blanco, amarillo o verde, se puede observar sangre, la cantidad debe ser de 3 a 5 mL (Imagen 1).

Debido que la saliva no es una buena muestra para el diagnóstico de TB, se recomienda que el laboratorio solicite la recolección de una nueva muestra. En caso de que esto no sea posible, una comunicación con el médico solicitante puede ser de ayuda para informarle que esto genera resultados falsos negativos (Imagen 1) (19).

Imagen 1. Tipos de muestras de esputo.



Fuente Laboratory Diagnosis of Tuberculosis Sputum Microscopy, Global Laboratory Initiative, 2013.

Tabla 3. Recolección y conservación de otras muestras pulmonares (aspirado nasofaríngeo, lavado o aspirado gástrico, secreción traqueal, secreción broncoalveolar o lavado broncoalveolar y biopsia pulmonar) (13, 14, 17 – 22).

Muestra y volumen	Recolección	Recipiente y Conservación
Aspirado nasofaríngeo	El procedimiento lo deben hacer profesionales de salud debidamente entrenados utilizando EPP incluido respirador N95 – N100, se debe realizar en un sitio con buena ventilación debido a que el procedimiento genera riesgo de infección por aerosoles • Si es un niño inmovilícelo de manera adecuada. • Utilizar una sonda de tamaño apropiado (6 – 8 F). • Medir la distancia de la punta de la nariz al trago de la oreja e introducir la sonda por una fosa nasal acorde con la distancia medida. • Instilar 1 ml de solución salina normal estéril (pH 7.0) a través de la sonda mediante una jeringa unida. • Aspirar suavemente todo el material de la secreción nasofaríngea que sea posible. En caso de que el niño esté llorando durante el procedimiento, trate de sincronizar la aspiración con la exhalación del llanto, esto ayudar a prevenir que la solución salina salga de la nasofaringe. • Recolectada la muestra, deje de aspirar y retire cuidadosamente la sonda de la nariz. • Marcar el recipiente con los nombres completos del paciente, documento de identificación, fecha y hora de la recolección de la muestra. • Enviar las muestras al laboratorio clínico para su procesamiento.	La muestra debe ser recolectada en dos tubos estériles, remitir al laboratorio uno para cultivo y el otro para PCR. Se debe procesar inmediatamente. En caso contrario, debe ser conservada en refrigeración (2°C a 8 °C) hasta por 24 horas contadas desde el momento de la recolección de la muestra.
Aspirado gástrico o aspirado lavado gástrico	La aspiración gástrica se realiza como un procedimiento hospitalario. Como se deben recolectar tres muestras en ayunas, para esto se requiere hospitalizar al niño de 24 a 72 horas. El procedimiento implica dos momentos. 1. Inserción de sonda oro o nasogástrica. - En un sitio con buena ventilación por personal de enfermería experimentado, que use EPP incluido respirador N95 – N100.	La muestra debe ser recolectada en dos tubos estériles, remitir al laboratorio uno para cultivo y otro para PCR. Se debe procesar inmediatamente. En caso contrario debe ser conservada en refrigeración (2°C a 8 °C) hasta por 24

Muestra y volumen	Recolección	Recipiente y Conservación
Muestras seriadas durante tres días consecutivos. El volumen mínimo de la muestra debe ser 10 mL.	- El niño debe estar en ayuno (lactantes al menos 3 horas y niños al menos 4 horas). - La inserción de la sonda se realiza entre las 12 y 1:00 de la madrugada - Se introduce una sonda de calibre 8 a 10 según la edad del paciente. - Para lactante menor es orogástrica y para niños mayores a un año nasogástrica. - Se marca el punto de inserción, se fija y se deja cerrada. 2. Toma de la muestra de jugo gástrico. - Antes de que el paciente despierte (evitando que inicie peristaltismo), aspirar con la jeringa el contenido gástrico (3 – 5 mL). - En caso de obtener una succión escasa se irriga con 10 a 30 mL según la edad del niño de agua destilada o solución fisiológica estéril y succionar el contenido gástrico. - Si todavía no se obtiene cantidad suficiente de líquido se procede a hacer el lavado gástrico nuevamente y aspirar de nuevo. - Si no se aspira líquido o se aspira menos de 5 mL, movilizar al niño de manera adecuada, colocar en decúbito lateral derecho e izquierdo y aspirar en cada posición. Si aun así no hay suficiente aspirado para el laboratorio movilizar la sonda hacia arriba y hacia abajo y realizar las aspiraciones correspondientes hasta obtener la cantidad requerida. - Luego se transfiere el líquido gástrico de la jeringa a un recipiente estéril. - Colocar el destilado en el recipiente, la cantidad mínima ideal recuperada debe ser de 10 mL. - Depositar el aspirado en el recipiente estéril y adicione igual volumen de solución de bicarbonato de sodio al 8% a la muestra recolectada para permitir la neutralización de pH, favoreciendo la viabilidad de las micobacterias. - Marcar el recipiente con los nombres completos del paciente, documento de identificación, fecha y hora de la recolección de la muestra. - Remitir inmediatamente al laboratorio para su procesamiento - El personal del laboratorio al recibir la muestra debe medir el pH, si está entre 6 y 7 no agregar nada, pero si es menor de 6 agregar gotas de	horas contadas desde el momento de la recolección de la muestra.

Muestra y volumen	Recolección	Recipiente y Conservación
	bicarbonato de sodio al 8% hasta alcanzar la neutralización requerida (pH 6 a 7).	
Lavado broncoalveolar (BAL) Una muestra El volumen mínimo debe ser 10 mL	El procedimiento se debe realizar por medico neumólogo y en el caso de niños por neumólogo pediatra.	La muestra se debe recolectar en un tubo de centrifuga plástico, estéril de 50 mL y con cierre hermético el cual debe ser proporcionado por el laboratorio, o un recipiente plástico tapa rosca estéril, como el utilizado para la muestra de esputo (Ver Figura 1) Se debe procesar inmediatamente. En caso contrario, debe ser conservada en refrigeración (2°C a 8°C) hasta por de 24 horas contadas desde el momento de la recolección de la muestra
Biopsia Pulmonar	Las biopsias deben ser recolectadas por un médico especialista. Siempre se deben tomar dos muestras, una en solución salina estéril o agua destilada estéril, que se envía al laboratorio para prueba molecular y cultivo y la otra en formol para estudio histopatológico	Se debe recolectar en dos recipientes estériles con tapa de cierre hermético. Debe ser conservada de en refrigeración (2°C a 8°C) hasta cinco días contados desde el momento de la recolección de la muestra.
Secreción traqueal	Estas muestras pueden ser empleadas para el diagnóstico de TB, están indicadas en pacientes con imposibilidad de expectorar, como es el caso de los pacientes intubados y ventilados mecánicamente, esto teniendo en cuenta el criterio clínico. Introducir la sonda sin hacer succión a través del tubo endotraqueal o cánula de traqueostomía, hasta ubicarla en el espacio traqueal.	Recolectar en frascos estériles de boca ancha o tapa a rosca como el utilizado para la muestra de esputo (Ver Figura 1). Se debe procesar inmediatamente. En caso contrario, debe ser conservada en refrigeración (2°C a 8°C) hasta por de 24

Muestra y volumen	Recolección	Recipiente y Conservación
	• Ocluya el orificio distal de la sonda y comience a succionar, retire la sonda lentamente mientras la va limpiando externamente con una gasa estéril. • Tenga precaución de suspender la succión, retirando la oclusión de la sonda para que se conserve la muestra obtenida en el trayecto de esta.	horas contadas desde el momento de la recolección de la muestra.
Materia fecal Seriado de tres muestras Se debe obtener mínimo 2 gramos de heces en cada toma.	Debido que esta muestra se estudia ÚNICAMENTE para el estudio de TB en niños que no pueden expectorar, la recolección la debe realizar el cuidador. Lo ideal recolectar la primer defecación del día. • Orinar antes para evitar contaminación de la muestra. • Colocar una bolsa de plástico limpia en el lugar de la deposición, evitando el contacto con suciedad, detergentes o contaminantes del inodoro • Si la muestra se obtiene de un niño que usa pañales, se tomar directamente del éste en el menor tiempo posible. • En un recipiente regular usado para recolección de muestra de materia fecal coloque la porción de muestra y llene hasta la mitad, haga esto con una bolsa limpia o la cucharilla que viene incluida en algunos recipientes, no llene el recipiente hasta el borde. • Una vez tomada la muestra guárdela en una bolsa de plástico con papel absorbente en un lugar limpio y protegido de la luz, si es posible guárdela en refrigeración. • Si es posible llevar la muestra al establecimiento de salud el mismo día de la toma.	Recipiente para recolección de muestras de materia fecal, proporcionado por el laboratorio. Colocar dentro de una bolsa de plástico con papel absorbente para evitar derrames. Para prueba molecular puede conservarse a temperatura ambiente máximo 35°C hasta por 3 días contados a partir del momento en que se hace la recolección de la muestra. Si se va a realizar cultivo se debe conservar en refrigeración (2°C - 8°C) hasta por 5 días contados desde el momento de la recolección de la muestra.
Tenga en cuenta que en niños que no pueden expectorar debe procurarse la recolección de tres muestras mínimo, dos diferentes en lo posible combinadas con el fin de aumentar la probabilidad diagnóstica, las opciones pueden ser: • Aspirado nasofaríngeo y esputo inducido. • Esputo inducido y aspirado gástrico. • Cualquier muestra respiratoria combinada con materia fecal para niños menores de 5 años.		

Tabla 4. Recolección y conservación de muestras extrapulmonares (13, 14, 17, 18, 20, 21).

Muestra, número y volumen	Recolección	Recipiente
Líquido Ceforraquídeo El volumen de muestra ideal es 5 mL.	La obtención de esta muestra debe ser realizada por médico especialista.	Recolectar en un recipiente estéril, plástico y tapa rosca, proporcionado por el laboratorio.
Líquidos estériles Pleural, pericárdico, ascítico y sinovial El volumen de muestra ideal es de 5 mL a 10 mL	La obtención de estas muestras debe ser realizada por médico especialista. - Si a la muestra se le va a realizar ADA, agregar tres gotas de citrato de sodio al 10% u oxalato de potasio al 10% por cada 10 mL de muestra. - Cuando no se va a realizar a la muestra ADA, se hacer la recolección de la muestra con jeringa heparinizada	Recolectar en un recipiente estéril, plástico y tapa rosca, proporcionado por el laboratorio.
Biopsia extrapulmonar Siempre se deben recolectar dos muestras; una en solución salina estéril, o agua destilada estéril que se envía al laboratorio para prueba molecular y cultivo y la otra en formol para estudio histopatológico	La obtención de estas muestras debe ser realizada por médico especialista.	Se debe recolectar en dos recipientes estériles con tapa de cierre hermético.
Secreciones La cantidad de muestra a recolectar es variable, depende del criterio clínico y condición del paciente.	La secreción de piel debe ser recolectada preferiblemente por un bacteriólogo, de la siguiente forma: Lavar profundamente la sección con agua destilada estéril o solución salina estéril.	Recolectar en tubo estéril con escobillón estéril previamente humedecido con solución salina fisiológica estéril o agua destilada estéril, proporcionada por el laboratorio.

Muestra, número y volumen	Recolección	Recipiente
	Presionar la lesión con el fin de obtener material purulento y recoger con varios escobillones estériles o aspirar con jeringa.	
Aspirado Ganglionar La cantidad de muestra a recolectar es variable, depende del criterio clínico y condición del paciente.	La obtención de estas muestras debe ser realizada por médico especialista.	Recolectar en un recipiente estéril, plástico y tapa rosca, proporcionado por el laboratorio.
Orina Mínimo 3 muestras máximo 6 en días consecutivos, la cantidad ideal debe ser mínimo 50 mL por muestra.	Después de realizarse higiene externa, desechando la primera parte de la micción recolectar la totalidad de la orina excretada.	Recipiente boca ancha con tapa de cierre hermético de 100 mL, debido a que se recoge la micción completa.
Sangre Dos muestras de 10 mL de sangre venosa recolectadas en días consecutivos.	La punción puede ser realizada por un bacteriólogo o personal del área de enfermería.	Tubo venoject heparinizado proporcionado por el laboratorio.
Conservación: Todas las muestras extrapulmonares se DEBEN PROCESAR INMEDIATAMENTE, de lo contrario se deben conservar de 2°C a 8 °C por no más de 12 horas contadas a partir del momento de la recolección de la muestra.		

5.2 Transporte de Muestras y/o Cultivos.

El embalaje y transporte de muestras y/o cultivos se debe realizar como se describe los siguientes documentos:

- Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2023–2024 - OMS (23).
- Manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis de la OPS/OMS (24).
- Manual Bioseguridad para laboratorios 4ª edición (11).

Para el transporte de muestras, la etiqueta es “Sustancia Biológica” categoría B (UN 3373), deben ser embalados cumpliendo los requisitos de embalaje/envasado p650 para esta categoría (Imagen 2), teniendo en cuenta la temperatura de conservación descrita (Ver Tablas 2, 3 y 4); el refrigerante debe ser colocado fuera del embalaje secundario o dentro del embalaje exterior o terciario. La marcación debe ir en el exterior del embalaje terciario, en caso de hacer sobre embalaje este debe ir también con la señalización respectiva (23).

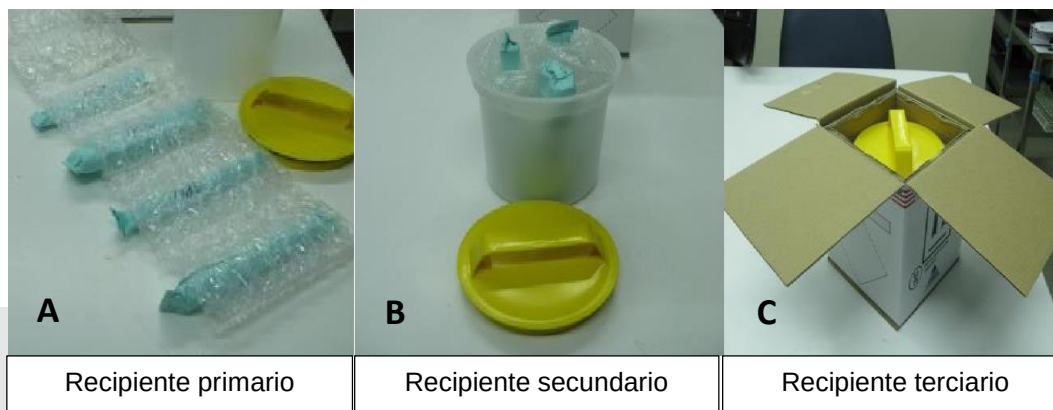
Imagen 2: Sistema triple embalaje para muestras.



Fuente: Grupo de Micobacterias.

El cultivo se etiqueta como “Sustancia Biológica” categoría A (UN 2814) y debe cumplir la instrucción de embalaje/envasado P620 (Imagen 3) de acuerdo con lo que representa en términos de riesgo biológico según lo descrito en la Guidance on regulations for the transport of infectious substances de la OMS (23).

Imagen 3: Sistema triple embalaje de cultivo.



Fuente: Grupo de Micobacterias.

5.3 Documentos para el Envío de Muestras y/o Cultivos.

Cuando el envío se realice entre laboratorios de la red, se deben anexar los documentos requeridos por el receptor de la muestra y/o cultivo. Para el envío al Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud (INS) el procedimiento establecido es a través de los Laboratorios de Salud Pública Departamental o Distrital (LSP) quienes serán responsables de remitir con una carta de solicitud, diligenciar el aplicativo SIVILAB-Lab-Muestras, adjuntar los resultados de las pruebas diagnósticas de tuberculosis realizadas previamente y diligenciar la matriz de solicitud de exámenes LNR Micobacterias-INS (Ver Anexo 2).

5.4 Identificación de las Muestras y/o Cultivos.

Debe hacerse en el recipiente de la muestra o el tubo de cultivo de forma clara y con tinta indeleble, los datos mínimos son:

- Nombre del paciente
- Número de identificación
- Código de la muestra y/o cultivo
- Fecha de recolección si es muestra o fecha de siembra del cultivo
- Tipo de muestra

Esta información debe también estar claramente registrada en los documentos remisorios. Es responsabilidad del LSP garantizar la calidad, trazabilidad y coherencia de todos los datos digitados en el aplicativo SIVILAB-Lab-Muestras. Una identificación incorrecta de la muestra debe ser una causal de rechazo.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

5.5 Recomendaciones de Bioseguridad.

El manual de Bioseguridad para laboratorios de la OMS, define que las normas a implementar en un laboratorio deben estar respaldadas por una evaluación del riesgo, a través de la cual se analizará el agente biológico en estudio, el procedimiento a realizar, la competencia del personal del laboratorio, la infraestructura, entre otros, con los resultados de este análisis se establecerán los requisitos básicos y las medidas de control necesarias para garantizar el trabajo seguro con tuberculosis (11, 24, 25)

Tabla 5. Requisitos básicos y medidas adicionales de control en las actividades de tuberculosis.

Requisitos básicos	Medidas adicionales de control
Buenas prácticas y procedimientos microbiológicos	Restringir el acceso en el área solo al personal que trabaja en ella. Se debe utilizar protección respiratoria y realizar los procedimientos en Cabina de Seguridad Biológica (CSB).
Competencia y formación del personal	Capacitación en los procedimientos que generan mayor riesgo en el momento en que se ejecutan las técnicas. Para esto es ideal que se haga supervisión al personal.
Características de diseño de las instalaciones	Controles de ingeniería: • Separación física entre el laboratorio y las áreas circundantes mediante el uso de una antesala o ubicando el laboratorio en un espacio donde haya poca circulación del resto del personal. • Cerrar y sellar ventanas. • Conseguir que la corriente de aire de escape del laboratorio no salga al entorno exterior de manera que se reduzca la probabilidad de exposición de otras personas, el aire de escape también puede ser filtrado antes de su salida al exterior.
Requisitos para la recepción y almacenamiento de muestras y/o cultivos	• Sacar las muestras de sus contenedores de transferencia o transporte utilizando los EPP, por el riesgo biológico que representa este proceso se debe realizar dentro de la CSB. • Aplicar protocolos estrictos de acceso restringido a las áreas donde se hace la manipulación de muestras y/o cultivos.
Descontaminación y gestión de residuos.	Los desechos generados en los procedimientos (restos de muestras o cultivos, insumos y elementos contaminados, ente otros) deben descontaminarse preferiblemente en el laboratorio y/o realizar su respectiva inactivación a través de la ruta sanitaria.
EPP	Incluir EPP especializados: • Se puede usar ropa protectora como batas y overoles desechables. • Usar calzado exclusivo para el área o cubrir con polainas desechables. • Uso permanente de respiradores N95 que cumplan con los requisitos para protección contra complejo <i>M. tuberculosis</i>, tener en cuenta las especificaciones que cada referencia proporciona respecto a las horas de uso. • Durante las actividades de manipulación de muestras y/o cultivos se sugiere usar doble par de guantes, al menos el exterior debe ser largo y cubrir las mangas de la bata u overol

Equipos de laboratorio requeridos	CSB: la clase II proporciona protección para el usuario, el medio ambiente y el área de trabajo (producto). Deben tener una calificación anual que asegure su correcto funcionamiento. La centrifuga empleada para el diagnóstico de tuberculosis debe tener contención de aerosoles y ser refrigerada (13, 20).
Respuesta a emergencias y/o incidentes	Planificar con el área de Seguridad y Salud en el Trabajo las actividades que se deben realizar ante una posible exposición con <i>M. tuberculosis</i> .
Programa de salud ocupacional requerido	Es ideal que se realice un examen médico regular de todo el personal de laboratorio que realiza procedimientos técnicos para el diagnóstico de tuberculosis tales como la manipulación de las muestras y/o cultivos, considerar el estudio de la presencia de posibles comorbilidades asociadas con alto riesgo de la enfermedad (6, 8).
Los requisitos básicos y las medidas de control específicas para cada una de las actividades según las metodologías empleadas en cada uno de los LC están ampliamente descritos en los manuales "Laboratory Biosafety 4th edition" y Trabajo seguro en torno a la tuberculosis, Manual de seguridad en el laboratorio (11, 24, 25).	

Recomendaciones dependiendo el análisis de riesgo de cada laboratorio según el manual de la OMS.

El manual trabajo seguro en torno a la tuberculosis de Iniciativa Global de Laboratorios define tres principios generales para trabajar con micobacterias de manera segura (24):

1. Prácticas de trabajo seguras, esto hace referencia a la adopción de buenas prácticas y procedimientos microbiológicos que minimizan la producción de aerosoles infecciosos, previenen la ocurrencia de por ejemplo de derrames, esto teniendo en cuenta que esta es la principal vía de transmisión del bacilo, a esto se suma el uso de equipos que minimicen este riesgo como las CSB.
2. Contar con una infraestructura y diseño de laboratorio que permitan minimizar el riesgo de infección cuando se realizan los procedimientos técnicos.
3. Las instalaciones físicas del LC deben tener un nivel de contención acorde con las actividades que se realizan.

Los LC deben tener un manual de bioseguridad donde las instalaciones, EPP, las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos implementados sean los más relevantes, sostenibles, coherentes con la evaluación del riesgo y de cumplimiento por el personal del laboratorio bajo una cultura de seguridad (11).

5.6 Procesamiento del Cultivo a Partir de Muestras Pulmonares.

Cuando se realiza esta técnica a partir de muestras contaminadas, el procesamiento debe cumplir con siguientes objetivos:

- Preservar la viabilidad de los BAAR tanto como sea posible.
- Eliminar la microbiota asociada que es causante de contaminación.
- Licuar el moco y detritos orgánicos que se encuentran en la muestra.

5.6.1 Esputo y Esputo Inducido.

El procedimiento recomendado para la descontaminación es N – acetil – L – cisteína – hidróxido de sodio (NALC – NaOH) descrito en la Figura 2.

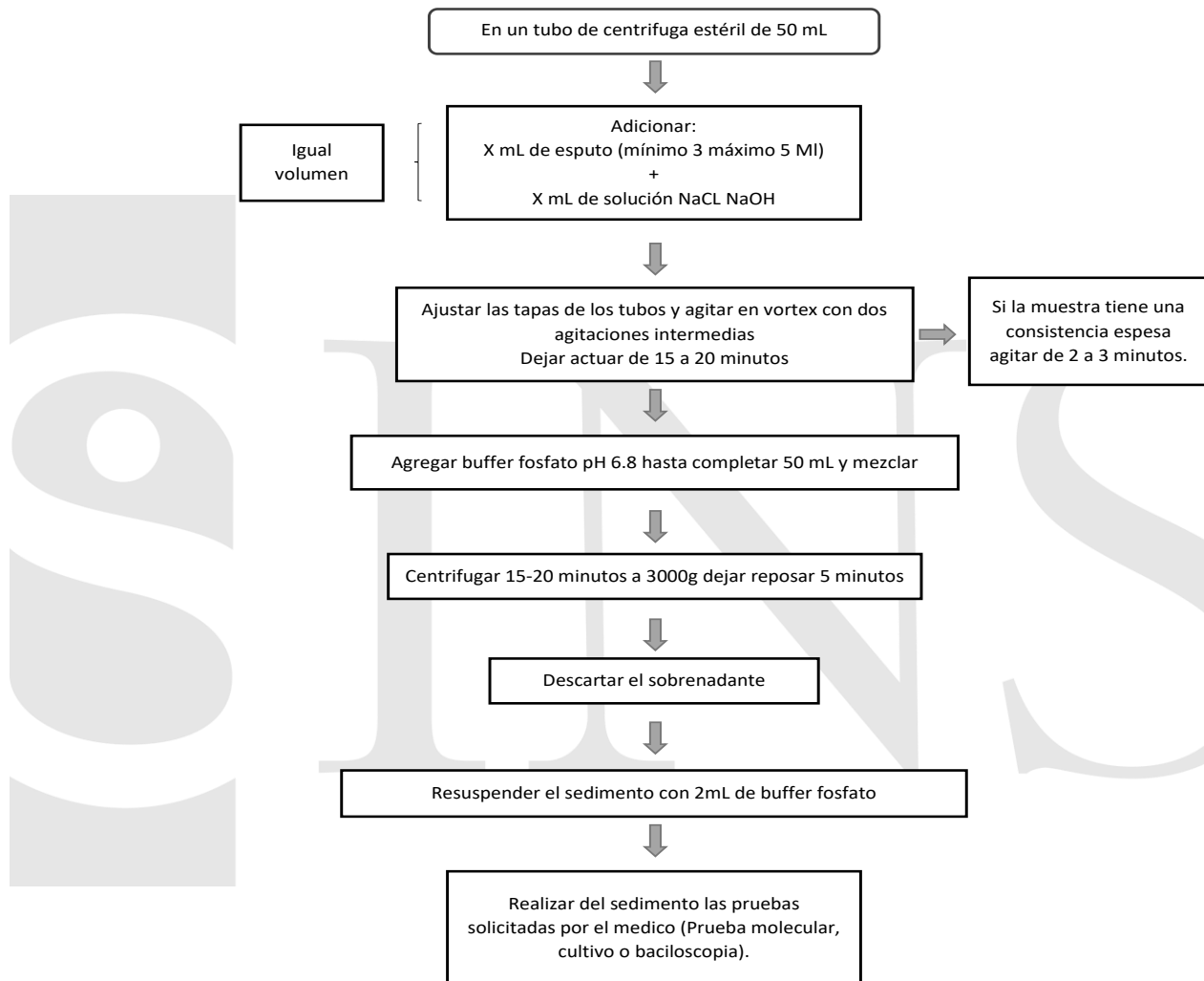
Los reactivos utilizados en el proceso de descontaminación pueden adquirirse comercialmente o ser preparados como se describe en el Anexo 3.

Método de Descontaminación NALC – NaOH.

- Encender la CSB 15 minutos antes y realizar limpieza de toda la superficie.
- Usar los EPP considerados a partir de la evaluación del riesgo tales como bata, gorro, respirador N95 – N100, doble par de guantes, entre otros.



Figura 2: Método de descontaminación NALC – NaOH (13, 17, 18).



Adaptación y fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, Parte II cultivo. Normas y guía técnica.

5.6.2 Aspirado Nasofaríngeo.

1. Transferir la sonda nasofaríngea a un tubo de centrifuga estéril de 50 mL y agregar 2 o 3 mL de agua destilada estéril, colocar la tapa y agitar con vórtex.
2. Dejar reposar por 15 minutos.
3. Agregar 2 mL de solución de NALC – NaOH, colocar nuevamente la tapa y mezclar con vórtex.
4. Dejar reposar por 15 minutos.
5. Retirar la sonda nasofaríngea con pinzas estériles y descartar en un recipiente con desinfectante activo contra micobacterias.
6. Agregar al tubo de centrifuga buffer fosfato hasta completar 50 mL y mezclar.
7. Centrifugar por 15 – 20 minutos a 3000 g en centrifuga refrigerada.
8. Retirar de la centrifuga y dejar reposar por 5 minutos dentro de la CSB.
9. Descartar el líquido sobrenadante.
10. Resuspender el sedimento en 2 mL de buffer estéril.

5.6.3 Aspirado Gástrico o Aspirado Lavado Gástrico.

1. Agregar la muestra a un tubo Falcon estéril de 50 mL.
2. Centrifugar por 15 – 20 minutos a 3000 g en centrifuga refrigerada antes de descontaminar.
3. Resuspender el sedimento en aproximadamente 5 mL de agua esterilizada.
4. Descontaminar con el método de NALC – NaOH como se recomienda para el esputo (Figura 2).

5.6.4 Lavado Broncoalveolar – BAL.

Si el volumen de la muestra es menor a 10 mL procésela completamente como un esputo (Figura 2).

Si tiene más de 10 mL:

1. Centrifugar por 15 – 20 minutos a 3000 g en centrifuga refrigerada antes de descontaminar.
2. Si la muestra es espesa o mucoide, agregar una pequeña cantidad de polvo NALC (50 – 100 mg) y agitar, este por ser un agente mucolítico ayuda a disolver la muestra favoreciendo el aislamiento de las micobacterias.
3. Resuspender el sedimento en aproximadamente 5 mL de agua estéril y descontaminar con método de NALC – NaOH (Ver Figura 2).

5.6.5 Biopsia Pulmonar.

1. Homogenizar asépticamente las muestras en un triturador de tejido o mortero con una pequeña cantidad (2 – 5 mL) de solución salina estéril o agua destilada estéril.
2. Si fuera necesario se puede agregar una pequeña cantidad polvo de NALC (50 – 100 mg) para que sea posible liberar los bacilos que quedan atrapados dentro de tejido.
3. Inocular sobre los medios de cultivo directamente.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

Si por las características macroscópicas del tejido se sospecha de contaminación en la muestra, siga los pasos del método de NALC – NaOH (Ver Figura 2).

5.6.6 Materia Fecal.

1. Resuspender aproximadamente 1 gr de heces en 5 mL de caldo Middlebrook.
2. Agitar la suspensión con vortex durante 5 segundos.
3. Dejar reposar por 15 minutos
4. Continuar con el método de del NALC- NaOH (Ver Figura 2)

5.7 Procesamiento de Cultivo a Partir de Muestras Extrapulmonares.

La prueba de referencia para la detección de BAAR en este tipo de muestras es el cultivo, esto debido a que por lo general su contenido de bacilos es bajo clasificándose como paucibacilares, sin embargo, el uso de técnicas de biología molecular es recomendado como una ayuda diagnóstica porque en caso de ser positivas favorecen la detección oportuna de casos; los laboratorios deben procesar en simultánea la PCR y el cultivo (13, 14, 26 – 28).

5.7.1 Líquidos Estériles (LCR, Sinovial, Pleural, entre otros).

Cuando el volumen es menor o igual a 1 mL la muestra debe ser utilizada para realizar la prueba molecular y el cultivo, para este último el volumen disponible se agrega directamente sobre los medios.

Si el volumen de muestra es superior a 1 mL, lo ideal es centrifugar por 15 – 20 minutos a 3000 g en centrifuga refrigerada.

Cuando la muestra se observa de consistencia espesa, se sugiere agregar una pequeña cantidad polvo de NALC (50 – 100 mg) y agitar con vortex por unos minutos, de forma tal que se licue un poco para favorecer la extracción de los BAAR.

Si al observar las características macroscópicas de muestra se sospecha contaminación, se sugiere resuspender el sedimento en aproximadamente 5 mL de agua estéril y descontaminar siguiendo el método de NALC – NaOH (Ver Figura 2).

5.7.2 Biopsias Extrapulmonares.

1. Homogenizar asépticamente las muestras en un triturador de tejido o mortero con una pequeña cantidad (2 – 5 mL) de solución salina estéril o agua destilada estéril.
2. Si fuera necesario se puede agregar una pequeña cantidad polvo de NALC (50 – 100 mg) para que sea posible liberar los bacilos que quedan atrapados dentro de tejido.
3. Inocular directamente sobre los medios de cultivo.

Si por las características macroscópicas del tejido se sospecha de contaminación, siga los pasos del

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

método de NALC – NaOH (Ver Figura 2).

5.7.3 Secreciones o Aspirados de Secreciones.

Estas muestras se deben descontaminar siguiendo lo establecido en el método de NALC – NaOH (Ver Figura 2), esto aplica para muestras de piel, tráquea, catéter, entre otras.

5.7.4 Orina.

1. Centrifugar por 20 – 25 minutos a 3000 g en centrífuga refrigerada, utilizando el número de tubos falcón de centrífuga de 50 mL que sea necesario según el volumen de muestra recibido.
2. Resuspender el sedimento de cada tubo con 1 mL de buffer.
3. Juntar todos los sedimentos obtenidos en un solo tubo.
4. Continuar con el método de NALC – NaOH (Ver Figura 2).

Las personas con tuberculosis renal pueden llevar micciones completas de diferentes volúmenes acorde con la clínica del caso, por esa razón el proceso de concentración se hace por separado pero previo a la descontaminación estos sedimentos se unen para aumentar la probabilidad diagnóstica.

5.7.5 Sangre.

Para el estudio de micobacterias en este tipo de muestras se recomienda hacer uso de los medios de cultivo específicos, para esto se deben seguir los protocolos de procesamiento establecidos por los fabricantes (13, 14).

5.8 Ensayos de Laboratorio Asociados al Diagnóstico y Vigilancia del Evento.

Los métodos de diagnóstico de tuberculosis activa definidos en los algoritmos del país son:

- Pruebas moleculares que permiten la detección rápida de los casos reconociendo el complejo *M. tuberculosis* y la identificación de las mutaciones asociadas a resistencia de los fármacos con una sensibilidad mejor que la de los métodos basados en cultivo. En Colombia se tiene establecido que el tiempo de reporte de estas pruebas es de **48 horas** desde el momento de la recolección de la muestra.
- Pruebas de identificación o determinación de especie que se hacen siempre que un cultivo sea positivo con el fin de reconocer si el aislado corresponde al complejo *M. tuberculosis* o no, una proporción de casos en que se evidencia crecimiento en el cultivo se debe a que el agente etiológico es una micobacteria no tuberculosa.
- Cultivo que es la técnica definida como de referencia para la detección de tuberculosis, adicionalmente es el único método permite evaluar la viabilidad de los BAAR.
- Baciloscopia que es la búsqueda microscópica de BAAR en cualquier espécimen clínico.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

Adicionalmente se tienen las pruebas para detección de tuberculosis latente como el Interferón gamma o prueba de tuberculina (Ver apartado 6 de este documento).

El uso de los diferentes métodos se debe realizar de conformidad con los algoritmos diagnósticos definidos en los anexos de la Resolución 227 de 2020 del MSPS (6).

Cuando los LC implementan técnicas de diagnóstico de TB deben realizar previamente una verificación del método siguiendo los estándares internacionales para este tipo de ejercicios y participar en programas de control de calidad externos que permitan demostrar su calidad.

Todas estas pruebas son financiadas a través del plan de beneficios y se encuentran incluidas en la resolución 2366 de 2023 por la cual se establece la Clasificación Única de Procedimientos en Salud – CUPS, este documento es actualizado cada año por el Ministerio de Salud y Protección Social (MSPS) (Ver Tabla 6) (29).

Tabla 6. CUPS incluidos en el Plan Obligatorio de Salud (POS) según resolución 2718 de 2024 (29).

Prueba	Código	Descripción del Procedimiento
Prueba molecular para identificación de especie y sensibilidad a fármacos	90.8.8.74	<i>Mycobacterium</i> no tuberculoso identificación pruebas moleculares
	90.8.8.85	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> pruebas de sensibilidad pruebas moleculares
	90.8.8.73	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> identificación pruebas moleculares
Antígenos bacterianos manual o automatizado	90.6.3.03	Prueba de Lipoarabinomano en orina de flujo lateral (solo para casos de TB VIH avanzada)
Prueba convencional para identificación de especie y sensibilidad a fármacos	90.1.3.13	<i>Mycobacterium</i> identificación.
	90.1.0.07	<i>Mycobacterium</i> pruebas de sensibilidad.
Baciloscopia	90.1.1.01	Baciloscopia coloración ácido alcohol resistente.
	90.1.1.11	Baciloscopia coloración ácido alcohol resistente (Ziehl Neelsen) lectura seriada tres muestras.
Cultivo	90.1.2.30	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> cultivo.
	90.1.2.29	Micobacterias no tuberculosas cultivo.

Tenga en cuenta que esta información puede cambiar con las modificaciones que de forma regular el MSPS realiza a esta resolución.

5.8.1 Pruebas Moleculares.

El uso de pruebas moleculares en reemplazo de la baciloscopia ha sido ampliamente recomendado debido a su mayor sensibilidad y rapidez en la detección de casos. Uno de los objetivos del Plan Estratégico “Hacia el fin de la Tuberculosis” Colombia 2016 – 2025 es “Diagnosticar y tratar exitosamente más del 90% de los casos de tuberculosis sensible y resistente” para lograrlo se debe realizar un diagnóstico rápido que favorezca la administración de un tratamiento adecuado, por lo que los algoritmos actuales del país buscan que estas técnicas rápidas hagan la detección de casos y la evaluación de resistencia mínimo a la rifampicina (8, 26 – 28, 30).

La Resolución 227 de 2020 adopta los algoritmos diagnósticos de TB pulmonar en población general, grupos vulnerables o de alto riesgo, personas con VIH/SIDA o inmunosuprimidas y menores de 15 años, indicando en estos tres últimos grupos la realización de prueba molecular y cultivo en medio líquido desde la sospecha diagnóstica, estas metodologías se realizarán idealmente a una muestra, esta posiblemente sea la primera de la mañana debido a que es de mejor calidad cuando se busca TB en adultos, en los casos con sospecha de tuberculosis infantil se deben realizar estas dos pruebas a todas las muestras que se hayan recolectado debido a que esto aumenta la probabilidad diagnóstica. Las recomendaciones actuales de la OMS hacen referencia al uso de un único algoritmo diagnóstico que inicia con una prueba molecular en todas las personas con tuberculosis presuntiva (8, 26 – 28, 30).

Cuando se busca TB en muestras extrapulmonares es recomendable realizar prueba molecular, considerando que su aporte en la oportunidad diagnóstica aún es poca la evidencia documentada relacionada con su utilidad y posiblemente con la implementación se vayan generando mejores datos de soporte. Es fundamental que estas muestras tengan cultivo en medio líquido como método estándar en la detección; los laboratorios pueden realizar ejercicios de validación retrospectivos analizando los resultados de estas técnicas y correlacionando con la clínica de los casos (8, 26 – 28).

Las metodologías moleculares disponibles en la red de laboratorios permiten identificar el complejo *M. tuberculosis* y la resistencia a fármacos antituberculosis mediante la detección de las mutaciones más frecuentes (26 – 28, 31 – 43).

La Tabla 7 describe los métodos de PCR en tiempo real disponibles actualmente en Colombia, las muestras recomendadas por inserto y los límites de detección, esta información que puede variar en cualquier momento debido a que existen pruebas en implementación, evaluación y/o desarrollo las cuales probablemente se vayan incorporando en la oferta diagnóstica del país.

Tabla 7. Características de las técnicas rápidas para detección de complejo *M. tuberculosis* y resistencia a fármacos

Metodología	Abbott® Realtime MTB detección y RIF/INH	AccuPower® TBMDR-1111 XDRA-1111 XDRB-1111	Allplex™ II MTB/MDR II MTB/MDR/XDR	Anyplex™ MTB MDR MTB /MDR/XDR	BDMAX™ MDR TB	Cobas® MTB MTB-RIF/INH	ELITe MGB® MTB EXTRA MDR/MTB	IRONqPCR™ Prueba RFIA-1113	Truenat™ MTB Plus y MTB-RIF	Xpert® MTB/RIF Ultra MTB/XDR
Principio de las pruebas	Abbott real time MTB detecta el complejo MTB dirigido a las dianas IS6110 y los genes PAB. Abbott real time MTB RIF/INH: detecta resistencia para rifampicina (<i>rpoB</i>) e isoniazida (<i>katG</i> e <i>inhA</i>)	TB&MDR Real-Time PCR Kit: PCR en tiempo real detecta complejo MTB dirigido a la diana IS6110 y resistencia a rifampicina (<i>rpoB</i>) e isoniazida (<i>KatG/inhA</i>) XDR-TB Real-Time PCR Kit: cuenta con dos kits diferentes, los cuales detectan el complejo MTB. El kit A detecta resistencia a quinolonas (<i>gyrA</i>), amikacina, kanamicina, capreomicina (<i>rrs</i>), y el kit B detecta resistencia a estreptomicina (<i>psL</i>) y etambutol (<i>EmbB</i>)	PCR multiplex en tiempo real detecta complejo MTB con dos dianas IS6110/MPB64 cuenta con dos pruebas. MTB/MDR: Detecta complejo MTB y resistencia a isoniazida (<i>katG</i> e <i>inhA</i>) y rifampicina (<i>rpoB</i>). MTB/MDR/XDR: Detecta complejo MTB y resistencia a isoniazida (<i>katG</i> e <i>inhA</i>), rifampicina (<i>rpoB</i>), quinolonas (<i>gyrA</i>) e inyectables (<i>rrs</i> , <i>eis</i>).	PCR multiplex en tiempo real detecta complejo MTB con dos dianas IS6110/MPB64 cuenta con dos pruebas. MTB/MDR: Detecta complejo MTB y resistencia a isoniazida (<i>katG</i> e <i>inhA</i>) y rifampicina (<i>rpoB</i>). MTB/MDR/XDR: Detecta complejo MTB y resistencia a isoniazida (<i>katG</i> e <i>inhA</i>), rifampicina (<i>rpoB</i>), quinolonas (<i>gyrA</i>) e inyectables (<i>rrs</i> , <i>eis</i>).	PCR en tiempo real detecta el complejo MTB con dos dianas IS6110/IS1081, en esta misma prueba detecta resistencia a rifampicina (<i>rpoB</i>) y resistencia a isoniazida (<i>katG/inhA</i>).	Cobas MTB: PCR en tiempo real detecta el complejo MTB mediante el gen del ARNr 16S y genes <i>esxJ</i> , <i>esxK</i> , <i>esxM</i> , <i>esxP</i> y <i>esxW</i> . Cobas MTB-RIF/INH: es una PCR en tiempo real cualitativa detecta resistencia a rifampicina (<i>rpoB</i>) y resistencia a isoniazida (<i>katG/inhA</i>)	MTB EXTRA: PCR en tiempo real detecta Complejo MTB dirigido a la diana IS6110 MDR/MTB: detecta resistencia a rifampicina (<i>rpoB</i>), isoniazida (<i>katG/inhA</i>), fluoroquinolonas (<i>gyrA</i>), Aminoglucósidos (<i>rrs</i> , <i>eis</i>)	PCR en tiempo real dirigido las diana IS6110, IS1081 y MPB64 detecta resistencia a rifampicina (<i>rpoB</i>), isoniazida (<i>katG/inhA</i>), fluoroquinolonas (<i>gyrA</i>), Aminoglucósidos (<i>rrs</i> , <i>eis</i>)	Truenat MTB plus: detecta complejo MTB con dos dianas IS6110 y el gen ribonucleósido-difosfatasa <i>nrdZ</i> . Truenat MTB-RIF: detecta resistencia a rifampicina en la región RRDR del gen <i>rpoB</i> .	MTB/RIF Ultra: PCR en tiempo real detecta el complejo MTB con dos dianas de amplificación (<i>IS 6110</i> y <i>IS1081</i>) y resistencia a rifampicina (gen <i>rpoB</i>). MTB/XDR: PCR en tiempo real, detecta resistencia a isoniazida (<i>inhA</i> , <i>katG</i> , <i>fabG1</i> y <i>oxyR-ahpC</i>), fluoroquinolonas (<i>gyrA</i> y <i>gyrB</i>) e inyectables (<i>rrs</i> y <i>eis</i>).
Muestras para el análisis	Espudo, lavado broncoalveolar y sedimentos tratados con NALC	Espudo, lavado broncoalveolar y cultivos.	Espudo, cultivos líquido y sólido, lavado broncoalveolar.	Espudo, lavado bronquial y tejidos frescos, cultivos (sólidos, líquidos) puros positivos para BAAR.	Espudo y lavado broncoalveolar y sedimentos tratados con NALC.	Espudo, lavado broncoalveolar y sedimentos tratados con NALC.	Espudo, lavado bronquiales, lavados broncoalveolares, aspirados gástricos, orina, líquidos cavitarios, biopsias o aspirados de biopsias.	Espudo, cultivos líquidos.	Espudo, lavado broncoalveolar, aspirado ganglionar, líquido pleural. LCR, abscesos, tejidos/biopsias.	MTB/RIF Ultra: esputos, aspirados gástricos, aspirados nasofaríngeos, aspirados óseos y articulares, aspirados bronquiales, tejidos, ganglios linfáticos. LCR, heces MTB/XDR: esputos, sedimentos de muestra
Límite de detección	MTB: 17 UFC/mL Rifampicina e isoniazida: 60 UFC/mL	TBMDR : 157,75 Cp/mL o 63,10 Cp/test Rifampicina: 361,35 Cp/mL o 144.54 Cp/test Isoniazida: 280.5 Cp/mL o 112,2 Cp/test.	20 copias/mL El analito MTB de Allplex™ ha detectado hasta 10 copias/reacción cuando hay varias copias de la secuencia IS6110 presentes en la cepa de MTB.	20 copias/mL	MTB: 0.5 UFC Rifampicina: 3.75 UFC Isoniazida: 6 UFC	Cobas MTB: 7.6 UFC/mL Lavado broncoalveolar y sedimentos de esputo 8.8 UFC/mL esputo Cobas MTB-RIF/INH: 94 UFC/mL: LBA y sedimentos esputo. 182 UFC/mL: esputo Isoniazida: 12.6 UFC/ml: LBA y sedimentos esputo 27.5 UFC/ml: esputo	6 UFC/mL pulmonares 20 UCF/mL Extrapulmonares	123 UFC/mL	MTB plus 30 UFC/mL MTB RIF 200 UFC/mL	MTB/RIF Ultra: 16 UFC/mL MTB 131 UFC/mL RR MTB/XDR: 136 UFC/mL muestra de esputo 86 UFC/mL sedimentos de muestras

La mayoría de estas técnicas rápidas han sido recomendadas como prueba diagnóstico inicial en reemplazo de la baciloscopia (26 – 28, 31 – 43).

Interpretación de Resultados de las Pruebas Moleculares

Todas las pruebas moleculares aportan en la detección de casos debido a que tienen mayor sensibilidad con respecto a las técnicas convencionales, la interpretación de los resultados debe hacerse siguiendo las instrucciones de los insertos comerciales.

Las técnicas que hacen detección de bajas concentraciones de bacilos deben ser interpretadas por el clínico correlacionando la clínica, los hallazgos radiológicos y antecedentes del paciente. En estos casos es fundamental contar con el cultivo como prueba complementaria que permite el desarrollo de los BAAR, favoreciendo estudios complementarios para conocer el perfil de resistencia porque desde las muestras suelen ser indeterminados o no interpretables, porque no se alcanzan los límites de detección.

Informe de Resultados de las Pruebas Moleculares

El reporte de resultados debe brevemente expresar el fundamento del método y los límites de detección declarados en el inserto.

Es recomendable que las pruebas que reconozcan la presencia de complejo *M. tuberculosis*, incluso aquellas que detectan en bajas cantidades se deben informar como Positivo o Detectado. En el caso de la evaluación de mutaciones asociadas con resistencia a fármacos, la presencia o ausencia se expresa como detectada o no detectada; en aquellos casos en que por bajas cantidades de BAAR no se logra evaluar la resistencia los métodos deben informarse como no interpretables agregando una breve descripción al clínico respecto a esta limitación.

5.8.2 Técnicas de Secuenciación.

Estas pruebas permiten desde una muestra previamente reconocida como positiva detectar en simultánea los genes relacionados con resistencia a los fármacos como linezolid, bedaquilina, clofazimina, etambutol, pirazinamida y delamanid los cuales no están incluidos en las técnicas de PCR empleadas de rutina en detección; adicionalmente hacen la identificación del complejo *M. tuberculosis* y sus variantes genéticas y, reconocen un número importante de especies de MNT. Estas pruebas no sustituyen a las PCR rápidas que son más accesibles y fáciles de realizar para detectar la resistencia a RIF, INH y FQ y están disponibles en el marco de los Planes de Beneficio (26 – 27).

Actualmente la OMS ha recomendado el uso de técnicas de Secuenciación Dirigida de Nueva Generación (NGSt por sus siglas en inglés) principalmente para el estudio de resistencia en aquellas personas que van a ser sometidas a tratamiento con los esquemas acortados por ser casos con TB MDR/RR, o en situaciones especiales en que se requiere abordar de una forma más integral el diagnóstico de resistencia, su implementación requiere que los laboratorios cuenten con infraestructura, personal capacitado, flujos de trabajo normalizados, buenas prácticas, experiencia en este tipo de pruebas, experticia en TB, entre otros, es ideal que sean realizadas en laboratorios de referencia donde se concentre un volumen de muestras que favorezca la oportunidad en la entrega de resultados y permitan la toma de decisiones terapéuticas (26 – 27).

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

5.8.3 Cultivo en Medio Líquido.

Esta técnica de diagnóstico bacteriológico evidencia desde 10 UFC por mL de muestra, actualmente es la única prueba que permite seguir la evolución de los casos que toman tratamiento y confirmar su curación, para TB extrapulmonar es el mejor método de diagnóstico (6, 13, 18, 44).

El medio líquido es más sensible que el sólido debido a que generalmente las muestras se someten a un proceso de centrifugación que favorece la detección de los bacilos por concentración, las técnicas proporcionan un suplemento que se adiciona al medio para potencializar el crecimiento de las micobacterias y contiene antibióticos que reducen la contaminación por la microbiota asociada a la mayoría de las muestras (6, 13, 18, 44).

Los LC que hagan cultivo deben contar con pruebas de identificación rápidas del complejo *M. tuberculosis* como las mencionadas en este documento (Ver 5.8.3. Pruebas de Identificación de Micobacterias) y así poder caracterizar los aislados positivos (44 – 49).

A continuación, se presentan las características de los medios de cultivo líquido que están disponibles actualmente en la red de laboratorios, se debe tener en cuenta que hay productos similares en desarrollo, evaluación o implementación los cuales se irán incorporando en la oferta diagnóstica del país y por ende esta información puede variar en cualquier momento (50, 51).

Tabla 9. Medios de cultivos líquidos disponibles actualmente en Colombia (50, 51).

Medio de cultivo	MGIT™	BACT/ALERT® MP
	Caldo Middlebrook 7H9 modificado con 10% de CO ₂ .	Caldo Middlebrook 7H9, pancreático de caseína, seroalbúmina y catalasa.
Fundamento	Fluorescencia.	Colorimetría.
Suplemento potencializador de crecimiento	➤ Ácido oleico. ➤ Albúmina. ➤ Dextrosa. ➤ Catalasa. ➤ Estearato de Polixietileno.	➤ Ácido oleico. ➤ Glicerol. ➤ Amaranto. ➤ Seroalbumina Bovina.
Liofilizado de antibióticos	➤ Polimixina B. ➤ Anfotericina B. ➤ Ácido Nalidíxico. ➤ Trimetoprima. ➤ Azlocilina.	➤ Anfotericina B. ➤ Azlocilina. ➤ Ácido Nalidíxico. ➤ Polimixina B. ➤ Trimetoprima. ➤ Vancomicina.

Recomendaciones Generales para la Realización del Cultivo para el Diagnóstico de Micobacterias.

El procesamiento de muestras para cultivo requiere que el laboratorio cumpla con ciertas recomendaciones que favorecen la detección de casos por este método, así mismo reducen la probabilidad de contaminación teniendo en cuenta que por ser medios enriquecidos se puede presentar el desarrollo de diferentes microorganismos, algunas de estas pautas son:

1. Para hacer cultivo se deben seguir las recomendaciones establecidas en el Manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis de la OMS (24, 25).
2. Como medida de bioseguridad específica para el manejo de este tipo de microorganismos las muestras deben ser manipuladas en CSB clase II tipo A2, recuerde que la parte más segura para trabajar es en la mitad de arriba abajo y de izquierda a derecha y no debe obstruir las rejillas de ventilación. Adicionalmente se deben utilizar los EPP definidos en la evaluación del riesgo (11, 24, 25).
3. Debe disminuir al máximo la generación y liberación de aerosoles, dejando reposar mínimo 10 minutos las muestras después de centrifugar o agitar y dispensar los líquidos sobre las paredes de los recipientes y/o medios de cultivo (11, 24, 25).
4. Cuando abra los recipientes de muestras o tubos de cultivo, hágalo durante el menor tiempo posible (11, 24, 25).
5. El recipiente empleado para descarte del material contaminado siempre debe estar dentro de la CSB (11, 24, 25).
6. La clasificación y disposición de los residuos generados (químicos y biológicos) se debe realizar de acuerdo con lo establecido en el manual de Gestión Integral de Residuos de cada institución.

Los protocolos para siembra de muestras en medio líquido establecen que se debe sembrar un medio sólido Löwenstein Jensen (LJ) simultáneamente, esto favorece la oportunidad diagnóstica en aquellos casos en que hay contaminación, sirve para observar morfología de colonias o evidenciar mezcla en especial cuando crecen MNT (50, 51).

A continuación, se presentan algunas recomendaciones para el procesamiento de muestras para cultivo.

Diagrama	Descripción
	Encienda la CSB y la centrifuga 15 minutos antes de empezar el trabajo, disponga de los otros equipos a utilizar en el procesamiento de muestras tales como agitador vortex, pipetas automáticas y temporizador. Aliste los insumos y reactivos requeridos para el procesamiento de muestras (tubos o botellas de cultivo, láminas, suplemento, medio LJ, reactivos para descontaminar, puntas para pipetas con filtro, tubos falcón, recipiente para descartar material contaminado).

www.ins.gov.co



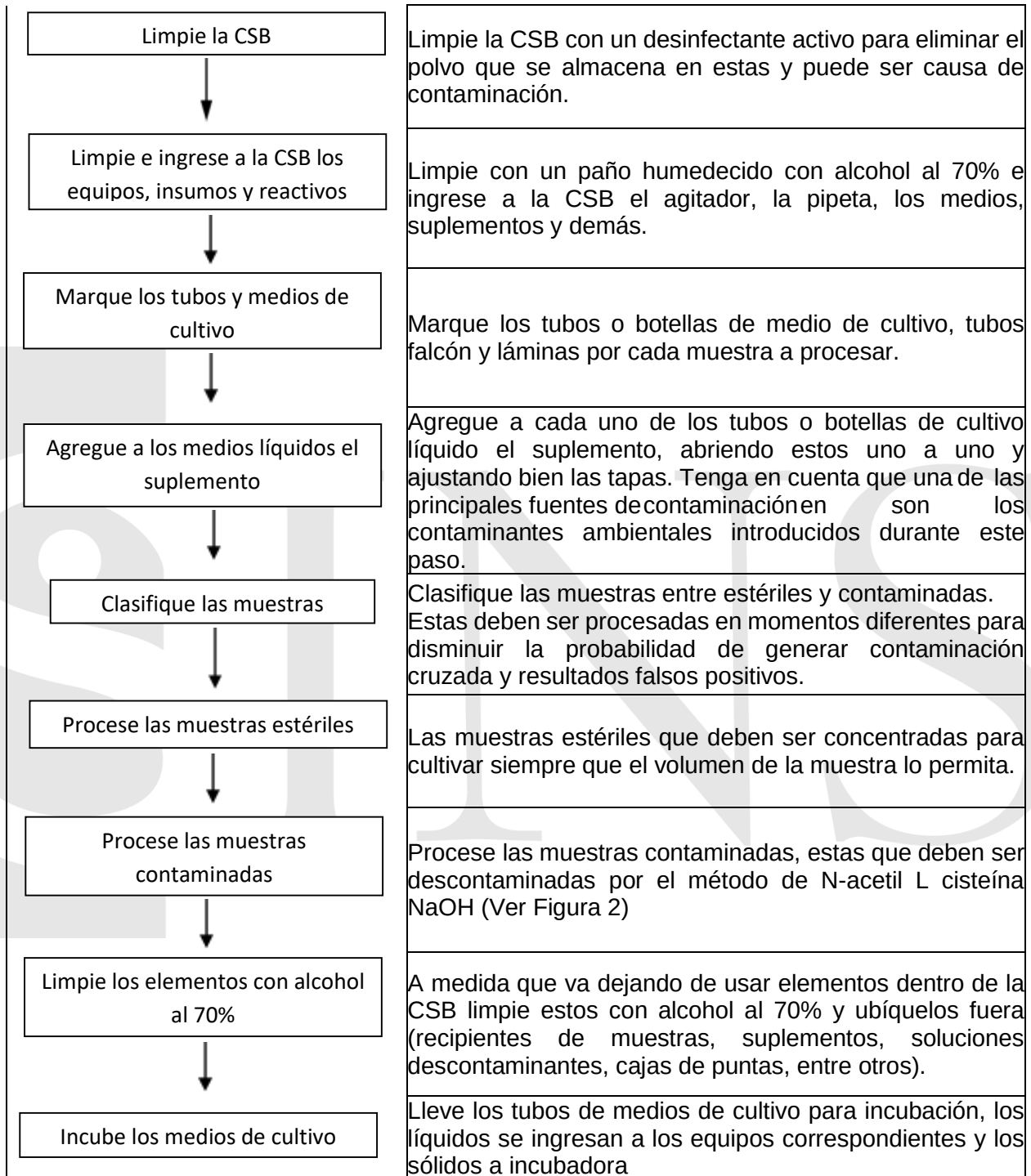
@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Lectura de Resultados.

Se realiza acorde con el fundamento de cada técnica; por ser métodos semi automatizadas el equipo realiza la lectura y genera una alerta de positividad la cual se relaciona con el tiempo de detección de crecimiento, la variaciones en esto se deben a:

- El número de BAAR viables que son inoculados en el medio de cultivo.
- La especie de micobacteria que crece, las micobacterias se clasifican por su tiempo de crecimiento en lentas como *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* o de rápido crecimiento como el *M. fortuitum*, *M. chelonae*.
- El tipo de muestra sembrada, teniendo en cuenta que las extrapulmonares suelen tardar más tiempo en dar señal positiva, debido a que son paucibacilares, es decir que el número de BAAR presentes es escaso.
- La ingesta de medicamentos por parte del paciente, esto puede producir inhibición o lento crecimiento, en especial cuando es una persona que está en tratamiento para tuberculosis. En aquellos casos con diagnóstico de tuberculosis resistente a fármacos los cultivos tardan más tiempo en crecer, son cepas con un metabolismo muy lento.
- Durante las diferentes etapas de la descontaminación de las muestras se producen alteraciones en el pH que pueden generar la muerte del 60 – 70% de las micobacterias, esto debido a que los BAAR se someten a pH altos o muy bajos, generando inhibición del metabolismo, lento crecimiento o la muerte los microorganismos. Por eso es fundamental que se cumplan todas las recomendaciones en cada una de las etapas de recolección, conservación y procesamiento de las muestras (Ver tablas 2, 3 y 4).
- Durante la centrifugación la pérdida de micobacterias también es significativa. Si esto se realiza en equipos que generan calor, se acelerará la muerte de BAAR, así mismo una velocidad de centrifugación insuficiente hace que no haya la precipitación de los bacilos en el sedimento a lo que se suma que las micobacterias son hidrófobas, lo que las hace difíciles de precipitar. De ahí la importancia de utilizar centrifuga refrigerada a la velocidad en gravedades recomendada.

Cuando se presenta una señal positiva en el equipo de incubación el profesional del laboratorio debe:

1. Realizar una observación macroscópica de los tubos o botellas con el fin de ver las características macroscópicas del crecimiento, cuando este es granular con flóculos (pequeños y/o grandes) no muy turbio puede ser debido a micobacterias, mientras que si es muy turbio se puede asociar a contaminación bacteriana. El complejo *M. tuberculosis* tiene un desarrollo típico, la mayoría de las cepas hacen grumos compactos que se asientan fuertemente en el fondo del medio líquido. En el LJ las colonias también tienen rasgos típicos que permiten reconocer cuando el crecimiento es de una micobacteria o debido a contaminación. Siempre se debe considerar el tiempo de desarrollo en los medios de cultivo teniendo en cuenta que esto en los casos de micobacteriosis permite orientar el diagnóstico de casos.
2. Hacer una coloración (ZN o auramina-rodamina) con el fin de establecer la causa de la señal positiva la cual puede ser debida a la presencia del complejo *M. tuberculosis*, el crecimiento de MNT o contaminación por gérmenes comunes

Interpretación de Resultados del Cultivo.

Se debe realizar correlacionando los resultados de las pruebas complementarias de coloración e identificación de especie, con el tiempo de crecimiento de las micobacterias y las características macroscópicas de las colonias en los medios de cultivo.

A continuación, se describen algunas situaciones que se producen para la interpretación de resultados:

- **Positivo para complejo *M. tuberculosis***

Un cultivo es positivo para complejo *M. tuberculosis* cuando en la coloración se observan BAAR agrupados o con factor cordón sin contaminación, en el medio líquido se observan flóculos y la prueba de identificación es positiva para complejo *M. tuberculosis*.

- **Positivo para complejo *M. tuberculosis* con contaminación**

En estos casos se observan en la coloración BAAR con otras estructuras como bacterias, levaduras y/o hifas, y en el medio de cultivo se visualiza turbidez con o sin presencia de flóculos característicos de complejo *M. tuberculosis*. La identificación de especie puede hacerse a través de una PCR, no se recomienda una inmunocromatografía debido a que puede dar un resultado falso negativo.

- **Positivo con escasos BAAR**

Si en la coloración se observan pocos BAAR sin contaminación y en los medios de cultivo el crecimiento es escaso con características de complejo *M. tuberculosis*, se deben reincubar los medios en los equipos en un tiempo inferior a cinco horas posterior a su extracción para continuar con la incubación al menos por 48 horas. Posterior a esto se debe realizar una prueba de identificación de especie y con base en los resultados de esta se emitirá el respectivo informe.

- **Positivo para BAAR con sospecha de MNT**

Si la coloración es positiva para BAAR y estos se observan aislados sin contaminación, en el medio de cultivo se evidencian flóculos pequeños o turbidez y la prueba de identificación es negativa para complejo *M. tuberculosis*, se debe considerar que la cepa aislada corresponde a una MNT y se debe procesar o remitir para el reconocimiento de especie.

- **Positivo con tiempo de crecimiento inferior a cuatro días**

Si se produce desarrollo de positividad antes de los cuatro días de incubación, corresponde a un desarrollo no característico, se deben correlacionar los resultados de la coloración, características del crecimiento en el medio de cultivo y prueba de identificación, si la muestra tenía una alta carga bacilar es posible que se presente el crecimiento de la micobacteria en menor tiempo, si se tiene el resultado de una prueba molecular o una baciloscopia pueden correlacionarse con este hallazgo.

Si en la coloración no se observan BAAR ni contaminación, se sugiere reincubar el medio de cultivo hasta los 42 días e informar.

- **Negativo**

Cuando un cultivo termina el ciclo de incubación en el equipo (42 días) sin evidencia de crecimiento, se procede con la revisión del medio LJ y si ambos tubos son negativos se descartarán.

Si se evidencia crecimiento en el LJ se procede con las pruebas complementarias de coloración e identificación de especie como se mencionó previamente.

Tenga en cuenta que, en algunos casos el crecimiento micobacteriano es extremadamente lento con menos consumo de oxígeno, este desarrollo puede darse sin generar una señal positiva. Se recomienda que al final de los 42 días establecidos en los protocolos de incubación, todos los cultivos negativos se examinen visualmente para confirmar que no haya ningún tipo de crecimiento antes de descartar. Si hay alguna sospecha de desarrollo, debe hacerse un frotis en búsqueda de BAAR, en caso de ser positivo es ideal subcultivar para obtener un mejor crecimiento.

Informe de Resultados del Cultivo.

Positivo siempre debe incluir el día en que el cultivo fue positivo y el resultado de la identificación de especie, debe ser explícito en el reconocimiento de complejo *M. tuberculosis*, MNT o contaminación.

Negativo se refiere a aquellos cultivos que en los medios líquidos y sólidos no presentaron desarrollo de colonias durante los 42 días de incubación.

Durante el tiempo de incubación el laboratorio no deberá realizar reportes preliminares debido a que por el lento metabolismo de algunas micobacterias es posible tener resultados positivos en cualquiera de los 42 días de la incubación.

Los resultados del medio de LJ solo se informarán cuando estos aporten al diagnóstico de micobacteriosis, por ejemplo, cuando el medio líquido se haya descartado por contaminación, en estos casos la incubación del LJ debe realizarse por ocho semanas.

Control de Calidad del Cultivo.

Es de gran importancia que los laboratorios garanticen la calidad de los reactivos y productos utilizados en el procesamiento de muestras para cultivo de micobacterias. Los medios de cultivo comerciales (líquidos y sólidos) tienen el certificado de calidad de casa matriz que especifica que son aptos para el uso especificado, el proveedor debe entregarlos con cada lote, adicionalmente los insertos de cada técnica establecen que previo a su uso debe hacerse un control interno empleando cepas de referencia (50, 51).

5.8.4 Pruebas de identificación de Micobacterias.

Es importante realizar la identificación o determinación de especie de micobacterias debido que existen otros patógenos diferentes al complejo *M. tuberculosis* que causan diversos signos y síntomas, cuando afectan el pulmón son similares a los de la TB, pero pueden causar enfermedad en todos los órganos, algunas de las pruebas de laboratorio disponibles permiten hacer el reconocimiento a partir de muestras directas, otras se realizan desde el crecimiento en cultivo, es recomendable que sean métodos validados comercialmente (Ver Tabla 8) (6, 26 – 28, 44 – 46).

Tabla 8. Técnicas para identificación de Micobacterias.

Nombre de la prueba	Características
Test de inmunoanálisis cromatográfico rápido (44, 47, 48).	Es un ensayo de inmunocromatografía que detecta el complejo <i>M. tuberculosis</i> en cultivos positivos para BAAR. Estas técnicas detectan el antígeno MPT64 o MPB64, estos son fracciones de una proteína micobacteriana específica que es secretada por las células del complejo <i>M. tuberculosis</i> durante su crecimiento en los medios de cultivo. Algunas cepas del complejo <i>M. tuberculosis</i> presentan mutaciones en el gen MPT/MPB64 generando un resultado negativo, en estos casos el aislado debe ser enviado al LNR del INS para identificación de especie.
Pruebas de PCR (26 – 28, 31 – 43, 45, 46)	Son todos los ensayos in vitro que reconocen el complejo <i>M. tuberculosis</i> y aquellos que se enfocan al reconocimiento de las especies más comunes de MNT.
Maldi-Tof por sus siglas en inglés, (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry) (49)	Se fundamenta en el análisis de proteínas ribosomales de los microorganismos, las cuales crean un espectro de masas que es específico para cada género y especie, este es comparado automáticamente mediante un programa informático con una base de datos construida con cepas de referencia; actualmente permite identificar 182 especies de micobacterias desde cultivos positivos, obteniéndose resultados con una mayor sensibilidad.

Antes de realizar estas pruebas el laboratorio debe hacer una coloración que permita identificar la presencia de BAAR y con base en los resultados de esta proceder con la técnica de identificación, el reporte de resultados debe hacerse siguiendo las recomendaciones de cada inserto comercial.

5.8.5 Otros métodos de apoyo diagnóstico en tuberculosis activa.

5.8.5.1 LF-LAM Prueba de flujo lateral lipoarabinomanano en orina (LF – LAM).

Las pruebas basadas en la detección del antígeno lipoarabinomanano (LAM) en la orina están recomendadas como pruebas basadas en biomarcadores para el diagnóstico de tuberculosis en punto de atención. Su mayor eficacia se obtiene en personas coinfectadas con enfermedad avanzada por VIH (26, 27).

Es un ensayo de inmuno captura que se fundamenta en la detección del antígeno lipoarabinomanano, el cual es un componente estructural de la pared celular externa de micobacterias que se desprende de las células metabólicamente activas o en degradación y se elimina por el riñón, se detecta en muestra de orina y su resultado es positivo cuando el paciente en estado avanzado por VIH tiene enfermedad por micobacterias. Su uso se debe hacer en simultaneo con las pruebas de PCR que permiten mejorar la precisión diagnóstica debido a que este antígeno es producido por todas las micobacterias, es fundamental que ante un resultado positivo el clínico defina un esquema de tratamiento (26, 27).

5.8.5.2 Adenosina Deaminasa (ADA).

La adenosina deaminasa (ADA, del inglés adenosine deaminase) es una enzima involucrada en los procesos de respuesta inmune asociados con linfocitos; el aumento de su actividad ha sido asociado como un marcador indirecto en el diagnóstico de meningitis tuberculosa (LCR), tuberculosis en exudado pleural (fluido pleural), pericarditis tuberculosa (líquido pericárdico) y peritonitis tuberculosa (líquido peritoneal o ascítico); esta prueba siempre debe ir acompañada de pruebas moleculares y cultivo en medio de líquido teniendo en cuenta que los valores de la enzima pueden estar elevados debido a otras patologías (44, 52, 53).

No se recomienda su uso en muestras como esputo, lavado broncoalveolar, sangre, debido a que los niveles de esta enzima pueden estar elevados por presencia de contaminación o glóbulos rojos, conduciendo a los pacientes a un diagnóstico errado.

5.9 Pruebas de Sensibilidad a Fármacos Antituberculosis.

La OMS recomienda evaluar la sensibilidad a los fármacos RIF, INH y FQ por técnicas moleculares que proporcionan resultados con buena sensibilidad y especificidad en menos de 48 horas. Las pruebas basadas en cultivo deben ser comerciales, su utilidad está encaminada a identificar resistencia en casos especiales, en los que se sospecha la presencia de otros mecanismos con los que el complejo *M. tuberculosis* cuenta tales como mutaciones en el genoma de que están asociadas con defectos de crecimiento o que dan lugar a niveles bajos de resistencia, bombas de eflujo, entre otros (54 – 56).

5.9.1 Técnica de Bactec™ MGIT™.

Esta metodología permite detectar viabilidad del complejo *M. tuberculosis* expuesto a los fármacos determinando si es sensible o resistente, debe ser realizada en laboratorios con personal altamente entrenado y un volumen de pruebas que asegure el nivel de experticia en el método y en la interpretación de resultados (54 – 56).

En la actualidad la OMS define este método como el estándar para los fármacos isoniacida, bedaquilina, delamanid, linezolid y clofazimina, estos deben ser evaluados en los pacientes diagnosticados como TB – MDR, TB - RR, TB - pre-XDR y TB - XDR (26, 27, 54 – 56).

5.9.2 Otras Técnicas de Sensibilidad a Fármacos.

Las pruebas para evaluación de sensibilidad a fármacos en micobacterias son incorporadas por laboratorios que cumplan con los requisitos de bioseguridad y biocustodia que se requieren para la manipulación de estos agentes infecciosos, es ideal que estas pruebas estén soportadas por ejercicios de verificación secundaria cuando se hacen siguiendo un inserto comercial o por validaciones que permitan establecer que el método cumple con el objetivo esperado, idealmente se deben seguir las recomendaciones que para este tipo de microorganismos publica el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

6 Diagnóstico de tuberculosis latente.

La infección latente por tuberculosis (ILTb) es una condición en la que el sistema inmunitario permanece activo en respuesta a los antígenos de *M. tuberculosis* sin presentar síntomas de tuberculosis activa, no todas las personas infectadas desarrollan la enfermedad. Se estima que el riesgo de que una persona con ILTB padezca una TB a lo largo de su vida varía entre el 5% y el 10%; este riesgo es especialmente alto en niños menores de 5 años y en personas con el sistema inmunitario comprometido (8, 57).

Una de las prioridades en el control de la tuberculosis a nivel mundial es que los países desarrollen estrategias que permitan fortalecer el proceso de diagnóstico de la infección y el tratamiento de estas personas, debido a que estas se convierten en reservorios de la enfermedad. Las pruebas de laboratorio que están recomendadas para la ILTB son Tuberculina (de Mantoux) e Interferón gamma, ambas se encuentran en el plan de beneficios y sus CUPS son 86.0.2.05 y 90.6.8.48, respectivamente (8, 29, 57).

Recientemente, la OMS ha recomendado la realización de pruebas para detectar la infección por tuberculosis en personas con alto riesgo de desarrollar tuberculosis activa y para quienes el tratamiento preventivo de la tuberculosis sería beneficioso, estas son la prueba cutánea de la tuberculina (también conocida como prueba de Mantoux) y los ensayos de liberación de interferón gamma (IGRA). Ambas miden la sensibilización inmunitaria a los antígenos de proteínas micobacterianas que se producen tras la infección por *M. tuberculosis*. No hay pruebas sólidas de que se deba preferir una prueba sobre la otra para predecir la progresión de la infección por tuberculosis a la enfermedad de tuberculosis. Ninguna de las dos pruebas se recomienda para el diagnóstico de la enfermedad de tuberculosis activa (29, 57).

6.1 Prueba de Tuberculina (PT).

También conocida como prueba de Mantoux es un método convencional desarrollado en el siglo XIX, considerado un “estándar de oro” para diagnosticar la infección por *M. tuberculosis*. Inicialmente, Robert Koch desarrolló la tuberculina a partir de cultivos. En 1905, Von Pirquet introdujo la cuti-reacción, y en 1908, Mantoux y Mussou perfeccionaron la técnica de la intradermorreacción. En 1934, Florence Seibert desarrolló el Derivado Proteínico Purificado (PPD) que es una proteína purificada derivada del cultivo de *M. tuberculosis*, fue estandarizado en 1951 como PPD-S y en 1958 la OMS aprobó un nuevo derivado proteínico denominado PPD RT-23, que es el que actualmente se utiliza en el mundo (58, 59).

La prueba se realiza mediante una inyección intradérmica de 0,1 ml de PPD RT-23 en el antebrazo, esta sustancia al penetrar en la piel es fagocitada por los macrófagos, produciendo una reacción inflamatoria; cuando la persona ha tenido contacto previo con la TB la reacción de hipersensibilidad retardada a los antígenos ocurre generalmente entre la 2ª y 12ª semana después de la infección. Una prueba positiva indica una respuesta del organismo a los antígenos del *M. tuberculosis* (58, 59).

La respuesta a la tuberculina después de la aplicación comienza entre 5 y 6 horas, alcanzando su

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

mayor intensidad a las 48 y 72 horas y persiste cuatro a siete días antes de disminuir la reacción. La lectura de la prueba debe hacerse a las 72 horas para asegurar precisión, esto se hace midiendo la induración en milímetros (mm) y así debe expresarse el resultado (58, 59).

Dentro de las limitaciones de esta prueba se tienen:

- Sensibilidad subóptima en individuos con disminución de la inmunidad celular
- No es específica para el *M. tuberculosis*
- Baja especificidad en personas vacunadas recientemente con BCG
- Para la aplicación de la prueba y lectura de resultados, se requiere personal entrenado con experiencia en la técnica.
- La interpretación de los resultados por parte del médico se hará correlacionando con la clínica del caso.

La conversión tuberculínica se refiere a la aparición de una induración de 5 mm o más en una persona que anteriormente no había mostrado una respuesta al ser evaluado con la prueba. Esto sugiere una infección reciente con *M. tuberculosis*, siempre que se haya descartado el efecto booster. Se considera una conversión reciente si la persona pasa de negativo a positivo en menos de dos años, o si hay un aumento de 6 mm o más en la induración respecto a la primera prueba, alcanzando más de 10 mm en la segunda. Esta conversión es útil para identificar individuos con alto riesgo de desarrollar tuberculosis (58, 59).

La prueba está indicada en todas las situaciones en que se requiera confirmar o descartar la infección tuberculosa, tales como:

1. Niños con síntomas sugestivos de TB: la PT tiene un elevado valor predictivo positivo para el diagnóstico de enfermedad. Sin embargo, no se debe utilizar como única prueba para el diagnóstico de infección ni en el manejo de los contactos, debe ser ordenada por especialistas en pediatría.
2. Inmunodeficiencias severas: también como apoyo en el diagnóstico de la ILTB
3. Trabajadores de la salud: especialmente cuando se vinculan a servicios que realizan atención de pacientes.
4. Convivientes y contactos íntimos de enfermos con TB.
5. Personas con sospecha clínica o radiológica de padecer TB.
6. Estudios epidemiológicos
7. En Colombia, la realización de la prueba de tuberculina está indicada para todo contacto de un caso de TB farmacorresistente

La PT no debe realizarse en personas con lesiones cutáneas generalizadas para evitar complicaciones y errores en la lectura, no está contraindicada en lactantes. La Academia Americana de Pediatría indica que la vacunación con BCG no impide la aplicación de la prueba tuberculínica, y no se debe repetir si ya se realizó y fue positiva, sin importar el diámetro de la induración (58, 59).

La prueba debe usarse solo cuando los resultados puedan conducir a una intervención terapéutica. Es crucial aplicar las normas estandarizadas para la conservación de este biológico, su aplicación y la lectura, esto para asegurar resultados válidos (58, 59).

6.2 Ensayos de Interferón Gamma (IGRA).

Son análisis de sangre *in vitro* que miden el interferón gamma liberado por los linfocitos al ser expuestos a los antígenos ESAT-6 y CFP-10 específicos de *M. tuberculosis* en sangre total, estas pruebas son más específicas debido a que los resultados no se ven afectados por la vacunación previa con BCG; la OMS emitió recomendaciones sobre el uso de estas pruebas para el diagnóstico de la ILTB, (59).

Son técnicas que se deben realizar en laboratorios que acorde con el método a realizar cuenten con el equipamiento necesario y profesionales capacitados en el método.



7. Pruebas para el control del tratamiento de tuberculosis activa por laboratorio.

Para evaluar la eficacia del tratamiento en los casos de tuberculosis pulmonar se utilizan las técnicas baciloscopia y cultivo, se debe tener en cuenta que cuando son casos en menores de 15 años diagnosticados a partir de otros tipos de muestras el control por laboratorio solo se podrá hacer en aquellos pacientes que pueden recolectar una muestra de esputo.

El control de tratamiento se realiza así:

- Tuberculosis sensible: se debe realizar baciloscopia al finalizar la primera fase del tratamiento, a la mitad de la fase de seguimiento y al terminar la fase de seguimiento.
- Tuberculosis resistente: se debe hacer baciloscopia y cultivo mensual durante el tiempo que dure el esquema de tratamiento según el perfil de resistencia

Para hacer el cambio de fase del esquema de tratamiento en los casos de tuberculosis pulmonar diagnosticados por cultivo, se recomienda realizar una baciloscopia de una muestra esputo, si la evolución es satisfactoria se esperaría que el resultado sea negativo, este se debe correlacionar con la evolución clínica (8).

En aquellos casos en que la baciloscopia y/o el cultivo son positivos el médico deberá correlacionar con la clínica del caso y solicitar las pruebas complementarias para identificación de especie y perfil de sensibilidad a fármacos.

7.1 Baciloscopia.

Es la búsqueda microscópica de BAAR en cualquier espécimen clínico mediante la coloración de ZN o de fluorescencia (auramina-rodamina), esto se puede realizar de muestras directas o desde sedimentos obtenidos por centrifugación (60, 61).

Se fundamenta en la ácido alcohol resistencia, propiedad de las micobacterias que son capaces de captar en su pared la fucsina o fluorocromo y retenerlo aún con la acción del alcohol ácido. Esta característica se debe al alto contenido de lípidos, péptidos, glicolípidos y principalmente ácidos micólicos presentes en la pared celular. El papel del mordiente (solución fenolada) es importante porque fomenta la penetración de la fucsina del fluorocromo y su unión con los lípidos bacilares, haciéndola más liposoluble y menos hidrosoluble, la coloración de contraste se realiza para resaltar los organismos teñidos de una manera más sencilla (19, 60, 61).

Muestra.

Para hacer el seguimiento del tratamiento de tuberculosis pulmonar se solicita a la persona una muestra de esputo, cuando la evolución es buena esta será saliva, aun así, el laboratorio deberá procesarla.

Preparación del Extendido.

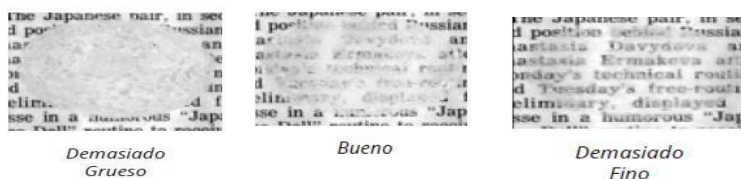
Se recomienda que el laboratorio realice la manipulación de 6 a 12 muestras por cada serie, esto para evitar errores y contaminación cruzada.

Procedimiento:

1. Usar EPP: bata, guantes, respiradores N95 – N100.
2. Asignar un número de identificación a cada muestra de acuerdo con lo estandarizado por el laboratorio, escribir el número en la orden del examen y en las paredes del envase.
3. Se recomienda limpiar los portaobjetos previamente con alcohol al 70% para favorecer la adhesión de la muestra al material de vidrio. No tocar con los dedos la parte del portaobjetos destinada al extendido.
4. Colocar las muestras que serán procesadas, en línea horizontal y en el orden en que han sido identificadas.
5. Se sugiere ordenar las muestras de manera creciente según numeración para poder rotular, en igual orden, las láminas que se utilizarán para realizar el extendido, garantizando que esta numeración se conserve durante el proceso de coloración. Utilizar una lámina para cada muestra.
6. Destapar con cuidado el envase y con un baja lenguas de madera partido en mitades o similar, sacar la muestra a extender desde la porción más purulenta o densa del esputo (partícula útil), preparar un extendido en forma de óvalo de 2 cm de largo x 1 cm de ancho. Esto debe realizarse con movimientos suaves para evitar la producción de aerosoles.
7. Verificar que el extendido tenga un grosor homogéneo y adecuado para la posterior visualización de los BAAR, cuando es demasiado fino se puede producir un resultado falso negativo y si es muy grueso el material puede desprenderse durante la coloración o resultar difícil la visualización de bacilos debajo de una capa gruesa de moco.

Nota: Si la persona que realiza el extendido no tiene experiencia en la elaboración de frotis homogéneos, se sugiere para adquirir destreza coloque un papel impreso debajo del extendido (este papel después de su uso debe ser inmediatamente descartado en bolsa roja). El grosor adecuado es el que permite ver, pero no leer, un texto impreso a través del preparado (Imagen 3). Una vez adquirida la destreza, es preferible no repetir rutinariamente este proceso para evitar tocar y transferir muestras con los papeles impresos.

Imagen 3: Extendido grueso, delgado o fino y bueno.



Fuente Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis, Parte 1, 2018.

8. Cerrar el envase de la muestra con la que se realizó el extendido y dejarlo en el lado sucio del área de trabajo, separado de los frascos con las muestras que aún no se han procesado,

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

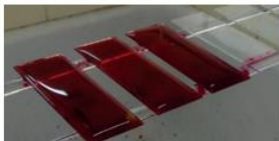
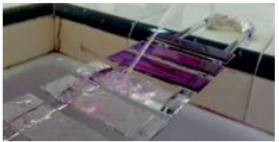
- para evitar confusiones.
9. Dejar secar los extendidos a temperatura ambiente.
 10. Para la fijación tomar de a uno en uno cada extendido y mantener la cara que contiene la muestra hacia arriba, y pasarlo rápidamente sobre la llama de un mechero tres o cuatro veces.
 11. Continuar de la misma manera con cada una de las muestras siguientes.
 12. Colocar cada lámina fijada en una gradilla. En caso de que el área de coloración se encuentre en un lugar diferente, las láminas deben ser transportadas en un recipiente plástico con tapa, recuerde que los extendidos deben ser coloreados de inmediato, debido a que se produce la muerte del bacilo solo cuando se agrega la fucsina fenicada.
 13. Conservar las muestras en refrigeración hasta terminar las lecturas de las baciloscopias y verificar que no es necesario realizar otras pruebas complementarias.
 14. Limpiar la superficie de trabajo con desinfectantes activos contra micobacterias.
 15. Descartar los guantes desechables y los frascos de muestra en bolsa roja, se recomienda inactivar los bajalenguas con hipoclorito al 1% o 2,5% por mínimo media hora o autoclavarlos al finalizar el trabajo realizado y luego colocarlos en guardián, para posterior disposición a través de la ruta sanitaria.

Tenga en cuenta que las láminas después de fijadas deben ser coloreadas lo más pronto posible, debido a que los bacilos permanecen vivos hasta que incorporan la fucsina en la pared durante la coloración.

Si se realiza este procedimiento en una CSB, se debe contar con la calificación anual obligatoria para asegurar la protección del operador, cuando se trabaja con este equipo no requiere del mechero como método de barrera, la seguridad del personal está dada por el flujo de aire de la cabina

7.1.1 Tinción de Ziehl Neelsen.

Tabla 10. Procedimiento Tinción de Ziehl Neelsen (61).

Coloración con fucsina			
 	• Disponer de un soporte de coloración para ubicar las láminas con una distancia de 1 cm, dentro de un lavadero de coloración. • Filtrar la cantidad de fucsina necesaria para las tinciones a realizar en la jornada. • Cubrir totalmente la superficie del extendido con fucsina. • Calentar suavemente por debajo de los extendidos con la llama de un mechero y haciendo movimientos de vaivén, hasta que se observe que se desprenden los vapores blancos, dejar de calentar y repetir el procedimiento dos veces más durante 5 minutos • El agua fría es importante para que la pared que fue abierta por la acción del calor vuelva a naturalizarse.	 	• No se debe usar agua tibia porque esta desprende los extendidos del portaobjeto • Inclinar el portaobjetos para eliminar el exceso de agua y así evitar diluir los reactivos que se utilizarán a continuación. • Cubrir la totalidad del extendido con alcohol ácido y dejar actuar 3 minutos. • Enjuagar cuidadosamente con agua fría a baja presión sobre la superficie • Cubrir todo el extendido con solución de azul de metileno. • Dejar actuar durante 1 minuto.
	• Enjuagar cuidadosamente con abundante agua fría a baja presión sobre la superficie, eliminando totalmente la solución de fucsina. • Girar el extendido y lavar con cuidado también la parte posterior.		• Enjuagar cuidadosamente con abundante agua fría a baja presión en ambas caras y limpiar la parte inferior con un algodón impregnado en alcohol si ha quedado coloreada. • Dejar secar las láminas a temperatura ambiente, apoyándolas en posición vertical en un soporte sobre un papel absorbente
Tomado del Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis, Parte 1, 2018.			

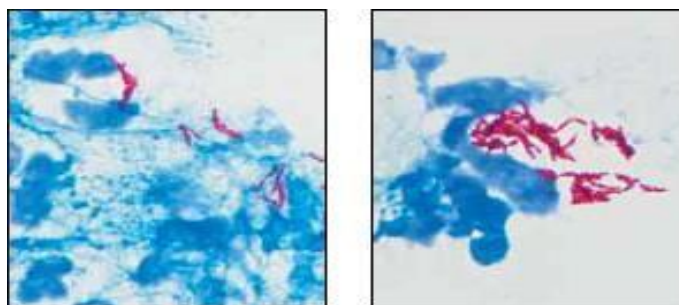
En ciertos laboratorios y escenarios, se utiliza la tinción de auramina-rodamina que permite observar las muestras a un aumento menor (40X), facilitando su análisis en menos tiempo. Esta técnica presenta desventajas como la generación de artefactos, lo que requiere una confirmación de las baciloscopias positivas. Se debe contar con un microscopio de fluorescencia y personal capacitado (61).

Lectura al Microscopio.

El profesional que realiza la lectura debe evaluar la calidad del frotis de la muestra de esputo, las muestras de personas en control de tratamiento pueden no cumplir los parámetros calidad, aun así, deben ser analizadas.

Para hacer la evaluación de la coloración; al microscopio se debe observar en cada lámina la calidad de la coloración, debe tener un fondo azul y los bacilos deben ser de color rojo fucsia (Ver imagen 4).

Imagen 4: Ejemplos de buena tinción.



Tomado de: Laboratory Diagnosis of Tuberculosis Sputum Microscopy, Global Laboratory Initiative, 2013.

Si se observan anomalías en la coloración, identificar las causas y en caso de ser necesario repetir nuevamente el extendido y la coloración (19, 60, 61)

Una buena coloración permite observar bastoncitos delgados, ligeramente curvos, de color rojo fucsia destacándose claramente contra el fondo azul, a veces se observan gránulos intensamente coloreados en el interior, en las muestras de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados (19, 60, 61)

La baciloscopia no permite distinguir el bacilo de la TB de otras micobacterias, además otros microorganismos pueden presentar distintos grados de acidorresistencia, observándose cocos, bacterias con formas variadas (pleomórficas), filamentos que a veces están cortados, o esferas de gran tamaño si se las compara con las bacterias, dentro de estos tenemos *Rhodococcus spp.*, *Nocardia spp.*, *Legionella spp.*, y los quistes de *Críptosporidio* e *Isospora spp.*, en estos casos no se debe reportar como positiva debido a que las estructuras observadas no corresponden a bacilos, idealmente se debe propender por un diagnóstico diferencial para estos pacientes (19, 60, 61).

El procedimiento se realiza así:

- Enfocar la muestra a partir del objetivo de lupa hasta el mayor que no requiere aceite de inmersión (por lo general es el de 40x). Evite colocar aceite antes de enfocar, pues se puede dañar el objetivo.
- Depositar una gota de aceite de inmersión en un extremo de la baciloscopia, sin tocar el extendido.
- Enfocar el extendido donde ha colocado la gota de aceite, con el lente de inmersión 100x.
- Observar cada campo microscópico útil en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el tornillo micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo. Seguir un recorrido en líneas rectas o paralelas sistemáticamente para observar el extendido, evitando repetir la lectura de los campos, por ejemplo, de izquierda a derecha.
- Contar el número de campos que ha leído y el número de BAAR que ha identificado. El número total de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en qué cantidad, como se observa en la Tabla 11:

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

Tabla 11: Número de campos microscópicos a leer según promedio de BAAR encontrados por campo (61).

Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
1 a 4 en todo el extendido	200

- Para calcular el promedio de BAAR encontrados, se sugiere utilizar una cuadrícula de 10 x 10 en la cual se escribe el número de bacilos observados por campo, posterior a esto se debe sumar el total de BAAR y dividirlo por el número de campos observados, teniendo en cuenta la Tabla 14. Cuando los bacilos se presentan agrupados, una estimación aproximada del número es suficiente para calcular este promedio.
- Los campos microscópicos leídos deben ser útiles, es decir aquellos en los cuales se observan células epiteliales (leucocitos, células ciliadas) o fibras mucosas del esputo teñidas de azul. Los campos sin estos elementos no deben ser considerados como útiles, a menos que contengan BAAR. Cuando en una lámina no se logran observar los 100 campos, es necesario repetir el extendido.
- Al finalizar la lectura, girar el revólver de los objetivos y retirar el portaobjetos de la platina. Comprobar el número de identificación y registrar el resultado.
- Antes de examinar el portaobjetos siguiente, limpiar suavemente con un trozo de papel para microscopio la lente de inmersión, esto evita la transferencia de material entre láminas.
- Al finalizar la lectura, limpiar el objetivo con la solución recomendada por el proveedor del equipo y secar con papel para microscopio. Limpiar los restos de aceite en otras partes del microscopio de la misma forma.
- Dejar el equipo en posición de descanso, desconectando y tapado (19, 60, 61).

El microscopio es un instrumento óptico que debe tener de forma regular mantenimiento, los laboratorios deben garantizar que esta actividad se cumpla acorde con lo establecido en el manual del fabricante.

Informe de Resultados:

Realizar teniendo en cuenta la escala para el informe de resultados de extendidos coloreados por la técnica de ZN:

Tabla 12: lectura e Informe de resultados de láminas teñidas por ZN (61).

Resultado del examen microscópico	Informe
No se encuentran BAAR en los 100 campos observados	No se observan bacilos ácido-alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	N° exacto de bacilos en 100 campos
Se observa entre 10 y 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observa de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

Procedimiento para seguir frente al hallazgo de menos de 5 BAAR en 100 campos observados:

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

- Ampliar la lectura a 200 campos.
- Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra, eligiendo la partícula útil si es que la hay.
- Si la lectura de este segundo extendido no modifica el resultado del anterior, se debe informar con el número exacto de bacilos observados y solicitar al paciente una nueva muestra.
- En estos casos el laboratorio debe correlacionar este hallazgo con los resultados de otras pruebas como PCR y cultivo en medio líquido (19, 60, 61).

7.1.2 Control de Calidad de las Técnicas de Coloración.

Para evaluar que la coloración se realizó correctamente pueden utilizarse láminas de control comerciales las cuales deben provenir de una matriz con las mismas características de la muestra de esputo. Los controles preparados con cepas ATCC®, vacuna BCG o cultivos positivos no son recomendados debido que no permiten evaluar realmente la calidad del procedimiento (19, 60, 61).

Los controles pueden prepararse utilizando dos muestras de esputo, una negativa y otra de baja positividad (+), de la siguiente manera:

- Agregar a cada una de las muestras seleccionadas (esputo con baciloscopia positiva y negativa) 10 gotas de hipoclorito de sodio al 5%, agitar y dejar en reposo mínimo durante cuatro horas.
- Homogenizar la muestra agitando en vórtex unos minutos.
- Realizar la mayor cantidad posible de extendidos, los cuales, una vez secos, fijar y guardar en cajas que los protejan de la luz directa.

- Deben estar identificadas como “Extendidos para CCI de coloración” y pueden ser almacenados hasta por dos meses.
- El registro de control de coloración debe indicar la positividad observada, debido que una disminución en esta indica deficiencias en el proceso de preparación de los controles

Los laboratorios deben definir la periodicidad con que realizan este control acorde con el volumen diario que de baciloscopias que realizan, se debe hacer siempre que se tiene un nuevo lote de colorantes, cuando el personal encargado de la técnica de coloración tiene poca experiencia en el proceso y en la lectura (19, 61, 62).

Evaluación de la Calidad de la Lectura.

Consiste en realizar evaluaciones de la lectura que hace el personal del laboratorio usando controles internos intramicroscopista e intermicroscopista. Para esto, se recomienda tener baciloscopias con un resultado conocido y consensuado (62).

Control Intramicroscopista.

Consiste en evaluar una misma baciloscopia, identificada de forma tal que permita hacer la lectura en ciego, en distintos momentos, por un mismo lector. De esta manera se puede evidenciar si este ha variado en su forma de interpretar un mismo resultado (62).

Control Intermicroscopista.

Este control consiste en la lectura de una baciloscopia por un grupo de lectores, para evaluar la uniformidad de criterio en la aplicación de la escala semicuantitativa. Todos los lectores deben observar la baciloscopia y registrar de manera individual sus resultados. Un tercero debe consolidar los datos y calcular el porcentaje de concordancia, el cual es satisfactorio si es $\geq 95\%$ (62).

La periodicidad en la realización del control intra e intermicroscopista se debe establecer posterior al levantamiento de una línea de base de resultados, este puede ser mensual o bimensual y cuando se realiza rotación o ingreso de profesionales en el área.

7.2 Cultivo.

Se define como un método para evaluar el control de tratamiento debido a que es la única prueba que permite determinar la presencia de bacilos viables, los resultados pueden tardar hasta 42 días por lo que en muchos casos la decisión de cambiar el esquema de tratamiento debe hacerse con base en los hallazgos clínicos, la evolución del tratamiento y los resultados de los controles anteriores en especial en casos de TB FR (6, 8, 44).

Información adicional respecto a las técnicas, procedimientos, informe de resultados, entre otros se encuentra en el numeral 5.6 de este documento.



www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

8 Control de Calidad.

8.1 Control de Calidad Interno (CCI).

Consiste en el monitoreo sistemático de los procedimientos técnicos que van desde la recolección de las muestras, las prácticas de trabajo, los equipos y materiales, hasta la elaboración del informe por el laboratorio. Los laboratorios deben establecer un sistema de controles regulares de acuerdo con la metodologías que realizan, son la base en los procesos de validación e informe de resultados; en los insertos de las técnicas se encuentran establecidos; estos se deben registrar y monitorear periódicamente para identificar puntos críticos y considerar la implementación de medidas preventivas y correctivas si se requieren según los hallazgos (62).

Las principales actividades para realizar son:

El coordinador y/o el responsable de calidad del laboratorio una vez a la semana pueden:

- Verificar al azar que los datos y resultados consignados en los informes elaborados ese día coincidan exactamente con los registrados en el “Libro de laboratorio de TB”.
- Verificar que las muestras estén siendo procesadas cumpliendo las condiciones de conservación y los tiempos de proceso (Ver Tablas 2, 3 y 4). Para esto los registros internos deben tener esta información.
- Controlar que los reportes de las pruebas moleculares se estén entregando entre 1 o 2 días hábiles desde la recepción hasta la validación del resultado acorde con lo definido en los algoritmos diagnósticos vigentes.
- Verificar que los resultados sean recibidos por el medico que hizo la solicitud del estudio en el menor tiempo posible.

Monitoreo de Indicadores de Desempeño.

Se recomienda que esto se haga con una periodicidad mensual, trimestral y semestral este monitoreo, idealmente se deben usar graficas que permitan conocer las tendencias e identificar variaciones por ejemplo cuando un valor específico se aleja bruscamente de los habitualmente encontrados (muy alto o bajo). Este ejercicio permite ver el desempeño de cada una de las pruebas, detectar errores sistemáticos y sostenidos en el tiempo. Los LC deben socializar estas mediciones con profesionales que manejen el programa de TB en la institución, esto mejora el trabajo en equipo y el compromiso de todos en especial cuando se detectan oportunidades de mejora.

En las Tablas 13, 14 y 15 se plasman los indicadores de desempeño para las técnicas de laboratorio empleadas para diagnóstico y seguimiento de tuberculosis activa (13, 14, 60 – 62).

Tabla 13: Indicadores de desempeño pruebas moleculares.

Medición		Indicador	Valor de referencia
1	Número de ensayos realizados en el mes	Total de muestras procesadas por prueba molecular para diagnóstico	No aplica*
2	Proporción de <i>M. tuberculosis</i> detectado sensible a fármacos H y R o R	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado sensible a fármacos H y R o R / Total de muestras procesadas por prueba molecular positivas para <i>M. tuberculosis</i> *100	No aplica*
3	Proporción de <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o R	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o R / Total de muestras procesadas por prueba molecular positivas para <i>M. tuberculosis</i> *100	No aplica*
4	Proporción de <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a H	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente H / Total de muestras procesadas por prueba molecular positivas para <i>M. tuberculosis</i> *100	No aplica*
5	Proporción de <i>M. tuberculosis</i> detectado con resistencia a fármacos indeterminada	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado con resistencia a fármacos indeterminada / Total de muestras procesadas por prueba molecular positivas para <i>M. tuberculosis</i> *100	No aplica*
6	Proporción de <i>M. tuberculosis</i> no detectado	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> no detectado / Total de muestras procesadas *100	No aplica*
7	Proporción de pruebas moleculares con errores	Número de muestras con errores / Total de muestras procesadas *100	< 3%
8	Proporción de resultados inválidos	Número de muestras con resultados inválidos / Total de muestras procesadas *100	< 1%
9	Oportunidad del tiempo de respuesta del laboratorio	Tiempo entre la recepción de la muestra en el laboratorio y el informe del resultado debe ser de 1 a 2 días hábiles	100%
10	Proporción de casos con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente solo a H con pruebas a quinolonas e inyectables	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente solo a H con pruebas a quinolonas e inyectables / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente solo a H *100	100%
11	Proporción de casos con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o solo R con pruebas a quinolonas	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o solo R con pruebas a quinolonas e inyectables / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o solo R *100	100%
12	Proporción de casos con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o solo	100%

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

	fármacos H y R o solo R enviados para realizar pruebas a otros fármacos (Bdq, Dlm, Cfz, Lzd)	R enviados para realizar pruebas a fármacos (Bdq, Dlm, Cfz, Lzd) / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado resistente a fármacos H y R o solo R *100	
13	Proporción de casos <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en medio líquido positivo	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en positivo / Número de <i>M. tuberculosis</i> detectado *100	100%
14	Proporción de casos <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en medio líquido negativo	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo negativo / Número de <i>M. tuberculosis</i> detectado *100	No aplica*
15	Proporción de casos <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en medio líquido no realizado	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en no realizado / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado *100	No aplica*
16	Proporción de casos <i>M. tuberculosis</i> no detectado con prueba molecular y cultivo en medio líquido positivo	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> no detectado con prueba molecular y cultivo positivo / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> no detectado *100	No aplica*
17	Proporción de casos <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo en medio líquido contaminado	Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectado con prueba molecular y cultivo contaminado / Número de muestras con <i>M. tuberculosis</i> detectad *100o	No aplica*
*Se debe realizar seguimiento y análisis ya que estos indicadores aún no tienen valores de referencia establecidos.			

Tabla 14: Indicadores de desempeño del cultivo.

Medición		Indicador	Valor de referencia
1	Porcentaje de tubos de cultivo en medio líquido contaminados (se calcula sobre los cultivos en medio líquido realizados a las muestras que contienen flora normal, respiratorias)	Número de tubos de cultivo en medio líquido contaminados / Número total de tubos en medio líquido sembrados x 100	Cultivo en medio líquido 8 – 10%
2	Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de tuberculosis pulmonar (en relación con la baciloscopia) Se calcula teniendo en cuenta los pacientes adultos (no las muestras) con tuberculosis pulmonar confirmada bacteriológicamente a partir de muestras respiratorias	Número de pacientes con tuberculosis pulmonar baciloscopia negativa que fueron reportados como cultivo positivo en un período de tiempo / Número de pacientes con tuberculosis pulmonar que se les haya realizado cultivo y baciloscopia en el mismo período de tiempo x 100	Entre un 15 – 20%
3	Aporte del cultivo al diagnóstico de casos de tuberculosis pulmonar (con relación a pruebas moleculares) Se calcula teniendo en cuenta los pacientes adultos (no las muestras) con tuberculosis pulmonar confirmada bacteriológicamente a partir de muestras respiratorias	Número de pacientes con tuberculosis pulmonar con prueba molecular negativa que fueron reportados como cultivo positivo en un período de tiempo / Número de pacientes reportados con tuberculosis pulmonar por prueba molecular y/o cultivo en el mismo período de tiempo x 100	No aplica *
4	Oportunidad del tiempo de respuesta del laboratorio	Tiempo del informe del resultado después de la lectura del equipo debe ser de 1 a 2 días hábiles	100%
*Se debe realizar seguimiento y análisis ya que estos indicadores aún no tienen valores de referencia establecidos.			

Tabla 15 Indicadores de desempeño de la baciloscopia.

Medición		Indicador	Valor de referencia
1	Carga de trabajo	Número de baciloscopias de diagnóstico + Número de baciloscopias de control de tratamiento	50 – 60 en una jornada laboral de 8 horas
2	Porcentaje de baciloscopias de control de tratamiento positivas	Número de baciloscopias de control de tratamiento positivas / Número total de baciloscopias de control de tratamiento x 100	5 – 10%
3	Concentración de la baciloscopia	Número de baciloscopias realizadas para diagnóstico / Número de SR investigados x 100	2.5%
4	Proporción de muestras deficientes entre las baciloscopias de diagnóstico	Número de muestras de diagnóstico deficientes (Salivas) / Total de muestras procesadas para diagnóstico	Hasta el 20%.
5	Oportunidad del tiempo de respuesta del laboratorio	Tiempo entre la recepción de la muestra en el laboratorio y el informe del resultado debe ser de 1 a 2 días hábiles	100%

Adicionalmente se sugiere monitorear cuando se detecta una sucesión de resultados positivos para TB en el procesamiento de muestras obtenidos por cualquier metodología de confirmación bacteriológica en uno o varios días de trabajo, en estos casos se debe investigar si se ha producido contaminación cruzada la cual se genera cuando se trabaja con una muestra multibacilar y en las siguientes se producen resultados positivos relacionados a baja carga de bacilos (13, 14).

Cuando estas u otras situaciones se identifican se sugiere consultar al LSP con el fin de recibir por parte de este asistencia técnica directa que permita un análisis más detallado y la identificación de las posibles causas.

8.2 Control de Calidad Externo (CCE).

El decreto 780 de 2016: contiene el decreto 2323 de 2006 en el capítulo dos RNL, artículo 2.8.8.2.3 define la RNL como un sistema técnico gerencial cuyo objeto es la integración funcional de los LNR, LSP, LC, otros laboratorios, y servicios de toma de muestras y microscopia, para el desarrollo de actividades de vigilancia en Salud Pública, prestación de servicios, gestión de la calidad e investigación (63).

En este documento se citan las competencias de los LNR de acuerdo a su nivel de acción en los eventos de interés en Salud Pública, por esto, los laboratorios que realicen pruebas moleculares para el diagnóstico de tuberculosis y farmacoresistencia deben participar en el Programa de Evaluación Externa del Desempeño; son obligatorios y buscan garantizar la calidad del proceso así como la referencia entre los diferentes niveles de la red, no tiene ningún costo y el valor agregado es el reconocimiento a nivel nacional de los procesos de cada institución en el diagnóstico de tuberculosis. Estos datos anualmente el LNR los reporta a la OMS para el informe mundial de tuberculosis indicando

el número de laboratorios que ofertan estas pruebas, el valor de eficiencia obtenido para los fármacos isoniácida, rifampicina y quinolonas, y el porcentaje de cobertura de este control de calidad externo en cabeza del LNR (12, 63).

Esta actividad se hace anualmente a través del Programa de Ensayos de Aptitud de Micobacterias “PREAM”, la información se encuentra disponible en: <https://www.ins.gov.co/TyS/programas-de-calidad/programas-directos/pream> (12)

Tabla 16: Programas de Ensayos de Aptitud de Micobacterias “PREAM”.

Prueba	Metodología de evaluación	Laboratorio evaluador	Laboratorio evaluado	Tipo de evaluación	Periodicidad
EEDD de la lectura de la baciloscopia de tuberculosis	Lectura directa de un panel de láminas de referencia	LSP	LC	Directa	Mínimo una vez al año para cada profesional de la red que lee baciloscopias
EEDD de la lectura de la baciloscopia de tuberculosis	Lectura directa de un panel de láminas de referencia	LNR	LSP	Directa	Anual
EEDD de Pruebas de Sensibilidad de complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> a los fármacos antituberculosis	Envío de un panel de cepas de referencia.		LSP-LC		

Fuente: Grupo de Micobacterias

En los laboratorios que realizan la tinción de auramina – rodamina, se recomienda a los LSP realizar seguimiento de indicadores de rendimiento comparando su aporte con cultivo y prueba molecular, y a la trazabilidad en los reactivos e insumos utilizados, mediante una visita asistencia técnica anual.

9 Vigilancia de los Agentes Infecciosos.

9.1 Vigilancia de la Farmacorresistencia.

La vigilancia de la tuberculosis farmacorresistente incluye varias actividades que deben armonizarse entre los diferentes niveles de la RNL, estas son:

1. Rutinariamente los LSP deben mantener actualizado el inventario de los LC que ofertan técnicas de diagnóstico.
2. Los LC de la red que realizan pruebas de sensibilidad, deben enviar inmediatamente los reportes de los casos que presentan resistencia a los fármacos antituberculosis isoniácida y/o rifampicina, quinolonas e inyectables a su LSP correspondiente.
3. Semanalmente se deben remitir al LNR las muestras de esputo de los casos identificados como TB - MDR, RR, TB - Pre XDR, TB - XDR por la red de laboratorios, cumpliendo los requisitos de volumen y conservación definidos en este documento (Ver Tablas 1 y 2), para esto el LSP solicitará al LC una nueva muestra.
Así mismo hará el seguimiento a la recepción del cultivo de estos casos, el cual también se enviará al INS cargando en el aplicativo Lab-Muestras toda la información requerida y los resultados de las pruebas realizadas, deben ser cultivos originales (no resiembras), puros con tiempo de desarrollo máximo de ocho semanas.
4. En los casos identificados como TB - MDR, RR, TB - Pre XDR, TB - XDR de muestras extrapulmonares, el LSP hará el seguimiento a la remisión del cultivo con el fin de que este sea enviado al LNR del INS cargando en el aplicativo Lab-Muestras toda la información requerida y los resultados de las pruebas realizadas, deben ser cultivos originales (no resiembras), puros con tiempo de desarrollo máximo de ocho semanas.
5. Mensualmente los LC de la red envían a su LSP correspondiente el “Libro actividades TB” establecido por el LNR, donde se registran todas las actividades de diagnóstico de tuberculosis, éste revisará calidad del dato, completitud de la información y coherencia.
6. Semestralmente los LSP remitirán al INS el Informe Consolidado de Actividades de bacteriología de tuberculosis con los indicadores, teniendo en cuenta las fechas que para este envío establezca el LNR de Micobacterias (64, 65).

9.2 Vigilancia de las Micobacterias no Tuberculosas.

La vigilancia de las MNT la realiza el LNR del INS recibiendo los cultivos que son reconocidos por la red como negativos para complejo *M. tuberculosis*. Aquellos laboratorios que cuentan con técnicas de identificación que les permiten determinar especie deberán remitir a al INS través de los LSP los cultivos cargando en el aplicativo Lab-Muestras toda la información requerida y los resultados de las pruebas realizadas, deben ser cultivos originales (no resiembras), puros con tiempo de desarrollo máximo de ocho semanas (64, 65)

Debido a que muchas de estas especies de MNT son contaminantes ambientales, es fundamental que se apliquen las recomendaciones del LNR del INS emitidas en el resultado relacionadas con la recolección de una nueva muestra para confirmar el agente etiológico y la correlación que el clínico

debe hacer previo al inicio de un esquema de tratamiento (8).

9.3 Indicadores Bacteriológicos.

Cada LC de la red nacional debe monitorear los indicadores de desempeño de las metodologías realizadas, hacer seguimiento a la calidad y oportunidad de las actividades de diagnóstico por pruebas moleculares, cultivo en medio líquido y baciloscopia. Para esto deben diligenciar “Libro actividades TB” establecido por el LNR, este archivo es un insumo muy importante porque permite al LSP monitorear las actividades de forma individual y de su red regularmente e incluso previo a los procesos de asistencia técnica.

En el año 2016 la OMS emitió un documento el cual define los doce indicadores y metas para el fortalecimiento de los laboratorios de tuberculosis, estos son monitoreados en los países con el objetivo de detectar los casos con precisión y rapidez, usando nuevos métodos diagnósticos y proporcionando el acceso universal a pruebas de sensibilidad con calidad a todos los afectados por esta enfermedad (66).

INS

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

10 Estructura y funciones de la Red Nacional de Laboratorios para la vigilancia de tuberculosis.

El LNR de Micobacterias es el encargado de dirigir y coordinar la RNL, sigue las recomendaciones de OMS/OPS que se emiten a través de políticas y lineamientos, sus actividades como coordinador se establecen en el decreto 780 de 2016 en el cual se define la estructura de la RNL y competencias de cada uno de los integrantes (63).

10.1 Funciones del LNR.

Establecidas en el decreto 780 de 2016:

- Asesorar y apoyar técnicamente al Ministerio de Salud y Protección Social en la formulación de políticas, normas y directrices relacionadas con la RNL, de acuerdo con las competencias a su cargo.
- Ejecutar las políticas, programas, planes y proyectos definidos por el Ministerio de Salud y Protección Social para la RNL.
- Mantener actualizado el diagnóstico organizacional y de capacidad de oferta de la RNL.
- Realizar alianzas estratégicas con entidades del orden nacional e internacional, que permitan fortalecer la RNL del país.
- Implementar el sistema de gestión adoptado por el Ministerio de Salud y Protección Social para el funcionamiento de la RNL.
- Desarrollar las acciones que garanticen la eficiente operación del Sistema de Vigilancia en Salud Pública acorde con los lineamientos que defina el Ministerio de Salud y Protección Social en relación con el componente de laboratorio.
- Diseñar e implementar el Sistema de Información para la RNL de acuerdo con los lineamientos del Ministerio de Salud y Protección Social. Se estableció la herramienta “Libro de laboratorio de TB” que permite consolidar y monitorear las actividades realizadas por los laboratorios de la red.
- Diseñar, validar e implementar un sistema de monitoreo y evaluación que garantice un control eficiente y eficaz de la gestión de la RNL acorde con los lineamientos del Ministerio de Salud y Protección Social.
- Realizar según sus competencias, las pruebas de laboratorio de alta complejidad para la vigilancia en salud pública, así como las pruebas para la vigilancia y control sanitario. En la actualidad se realiza vigilancia de la resistencia del complejo *M. tuberculosis* a fármacos antituberculosis e identificación de micobacterias no tuberculosas.
- Apoyar al Ministerio de Salud y Protección Social en el desarrollo de las políticas de vigilancia e investigación de los efectos en salud asociados a las actividades de otros sectores, en tanto estas puedan afectar la salud humana.
- Propender por el cumplimiento de estándares de calidad tendientes a la acreditación de sus procesos técnicos, científicos y administrativos
- Vigilar la calidad de los exámenes de laboratorio de interés en salud pública desarrollados por los laboratorios de salud pública departamentales y del Distrito Capital. Se tiene establecido el Programa de Ensayos de Aptitud de Micobacterias “PREAM”, mediante el cual se realiza la Evaluación Externa del Desempeño Directa de la lectura de la Baciloscopia de tuberculosis a los

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

LSP del país y de las pruebas de sensibilidad del complejo *M. tuberculosis* a los fármacos antituberculosis a todas las instituciones públicas y privadas que realicen estas pruebas por métodos moleculares y/o convencionales.

- Participar en programas de evaluación externa del desempeño con instituciones nacionales e internacionales.
- Aplicar las normas de bioseguridad en los procedimientos de laboratorio incluyendo la remisión, transporte y conservación de muestras.
- Apoyar y promover la realización de investigaciones en salud y en biomedicina según las necesidades del país y directrices dadas por el Ministerio de Salud y Protección Social.
- Proponer y divulgar las normas científicas y técnicas que sean aplicables para el fortalecimiento de la Red.
- Promover y realizar actividades de capacitación en temas de laboratorio que fortalezcan la gestión de la RNL.
- Desarrollar, aplicar y transferir ciencia y tecnología en las áreas de su competencia.
- Prestar asesoría y asistencia técnica a los LSP en aspectos relacionados con sus competencias.

10.2 Funciones del LSP.

Establecidas por el LNR, el decreto 780 de 2016, las resoluciones 227 de 2020 y 1646 de 2018.

- Desarrollar los procesos encaminados a su integración funcional a la Red de Laboratorios y al cumplimiento de sus funciones de manera coordinada y articulada con las instancias técnicas de la dirección territorial de salud afines con sus competencias.
- Adoptar e implementar el sistema de información para la RNL establecido por el nivel nacional en los temas de su competencia (Para este caso es el “Libro de laboratorio de TB”).
- Recolectar la información de la red en el “Libro de laboratorio de TB” depurarlo, analizarlo y cruzar de forma regular la información de los casos de tuberculosis diagnosticados con los referentes del PNPCT y SIVIGILA.
- Adoptar e implementar en su jurisdicción el sistema de monitoreo y evaluación de la RNL acorde con los lineamientos del MSPS.
- Recopilar, procesar, analizar y difundir oportunamente datos y resultados de los análisis de laboratorio de interés en salud pública, con el fin de apoyar la toma de decisiones para la vigilancia y control sanitario.
- Implementar el sistema de gestión de la calidad para garantizar la oportunidad, confiabilidad y veracidad de los procedimientos desarrollados.
- Participar en los programas nacionales de EED acorde con los lineamientos establecidos por los laboratorios nacionales de referencia, que para el caso de micobacterias es el PREAM.
- Actualizar el inventario de los laboratorios que realizan pruebas rápidas moleculares, identificar las rutas que se tienen en la red en cumplimiento de los algoritmos diagnósticos actuales y remitir al Grupo de Micobacterias esta información, con el fin de incluir esas instituciones en el programa anual de control de calidad.
- Vigilar la calidad de los exámenes de laboratorio de interés en salud pública desarrollados por los laboratorios del área de influencia.
- Realizar el control de calidad de las baciloscopias de tuberculosis a su red de laboratorios implementado la EED de acuerdo con la guía para la evaluación externa del desempeño de

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

- micobacterias en la RNL.
- Implementar los programas de bioseguridad y manejo de residuos, de acuerdo con la normatividad nacional vigente.
- Cumplir con los estándares de calidad y bioseguridad definidos para la remisión, transporte y conservación de muestras y cultivos, para la realización de pruebas de laboratorio.
- Coordinar la red de laboratorios en su jurisdicción, en el tema de tuberculosis, de acuerdo con los lineamientos del INS y el MSPS
- Garantizar la vigilancia de la resistencia a fármacos y de las MNT de conformidad con sus directrices del LNR.
- Realizar capacitación, asistencia técnica, monitoreo y evaluación a la red de laboratorios de su jurisdicción.
- Recolectar, consolidar, analizar y difundir la información de tuberculosis de los laboratorios a su red y enviar el informe según directrices del LNR.
- Articularse de forma continua y sistemática para el ajuste y análisis de la información procedente de la RNL el SIVIGILA y el Programa de Tuberculosis de su jurisdicción.
- Apoyar las iniciativas de investigación operativa propuestas por el nivel nacional sobre tuberculosis, en los aspectos de su competencia.
- Fortalecer la asistencia técnica a la red de prestadores de servicios de salud, para el fomento del control de infecciones en los laboratorios clínicos.

Los LSP que cuentan con pruebas moleculares para detección de resistencia a rifampicina con o sin isoniácida y a quinolonas, deben fortalecer este proceso en el escenario de vigilancia sin suplantar la responsabilidad de EAPB, cumpliendo con la oportunidad establecida en la resolución 227 de 2020 del MSPS (8).

10.3 Funciones de los Laboratorios Públicos y Privados o Referentes para el Evento en el Nivel Municipal y/o Local según Corresponda.

Establecidas por el LNR, el decreto 780 de 2016, las resoluciones 227 de 2020 y 1646 de 2018.

- Desarrollar la gestión para su integración funcional a la RNL.
- Apoyar a la entidad territorial en la realización de pruebas de laboratorio, según su capacidad y área de especialización, en caso de emergencia sanitaria o cuando en el territorio no exista otra entidad estatal que pueda suplir la necesidad inmediata o de fuerza mayor.
- Adoptar las directrices nacionales y territoriales que permitan su articulación al Sistema de Vigilancia en Salud Pública y su participación en el sistema de información para la RNL. El sistema de información establecido por el LNR para este evento es el “Libro de laboratorio de TB”, que permite realizar triangulación de la información con SIVIGILA y el programa de tuberculosis, adicionalmente hacer seguimiento a indicadores, este archivo debe ser diligenciado y enviado mensualmente al LSP.
- Informar de manera obligatoria y oportuna a la Dirección Local de Salud, los datos y resultados de pruebas de laboratorio de interés en salud pública a los interesados para la toma de decisiones.
- Implementar un sistema de gestión de la calidad y participar en los programas de evaluación externa del desempeño, para el evento de tuberculosis es el PREAM.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

- Aplicar las normas de bioseguridad y manejo de residuos, de acuerdo con la normatividad nacional vigente.
- Cumplir con los estándares de calidad y bioseguridad definidos para la remisión, transporte y conservación de muestras para la realización de pruebas de laboratorio.
- Prestar los servicios de recepción y/o toma de muestra, conservación, transporte, procesamiento, análisis e informe de resultados de laboratorio de manera oportuna, eficiente y confiable.
- Participar en el sistema de referencia y contrarreferencia de muestras biológicas, ambientales e insumos de acuerdo con los lineamientos nacionales y territoriales.
- Para el diagnóstico y control de tratamiento de tuberculosis se deben seguir los algoritmos establecidos por el MSPS.



www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. **Organización Mundial de Salud.** Global Tuberculosis Control report. 2024. Geneva: Switzerland, 2023. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>.
2. **Organización Mundial de Salud.** The End TB Estrategy. 2015. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/the-end-tb-strategy>
3. **SIVIGILA.** Informe de evento tuberculosis 2023. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/Informesdeevento/TUBERCULOSIS%20PE%20XIII%202023.pdf>.
4. **Senghore M, Diarra B, Gehre F, Otu J, Worwui A, et al.** Evolution of *Mycobacterium tuberculosis* complex lineages and their role in an emerging threat of multidrug resistant tuberculosis in Bamako, Mali. Scientific Reports. Vol 10, No. 327, 2020. DOI: 10.1038/s41598-019-56001-0
5. **Parsons S, Drewe J, Gey N, Warren R, Van Helden P.** Novel Cause of Tuberculosis in Meerkats, South Africa. Emerging Infectious Diseases. Vol. 19, No. 12, 2013. DOI: 10.3201/eid1912.130268.
6. **Farga V, Caminero JA.** Tuberculosis 3ª edición. Mediterráneo, Santiago y Buenos aires. 2011. 483 páginas.
7. **Organización Mundial de Sanidad Animal.** Código Sanitario para los Animales Terrestres. 2024. Disponible en: <https://www.woah.org/es/enfermedad/tuberculosis-bovina/>
8. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 227 de 2020. Colombia. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolución%20No.%20227%20de%202020.pdf
9. **Revista Chilena de Infectología.** Asociación del estado nutricional y factores clínicos con muerte relacionada con tuberculosis en Colombia. 2021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182021000200161>
10. **Organización Panamericana de la Salud.** Manejo conjunto de tuberculosis y diabetes mellitus: proyecto piloto para la implementación piloto del marco OMS/la unión servicios de salud de las ciudades de Tijuana, México, Salvador (bahía) y Sao Paulo, Brasil. Disponible en: <https://www.paho.org/es/file/35898/download?token=dXYGC0Fm>
11. **Organización Mundial de Salud.** Manual de Bioseguridad en el laboratorio, cuarta edición. 2020. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>.
12. **Instituto Nacional de Salud.** Guía para la Evaluación del Desempeño de Micobacterias en la Red Nacional de Laboratorios. 2024 Disponible en: www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/guia-para-la-evaluacion-externa-del-desempeno-de-micobacterias-en-la-red-nacional-de-laboratorios.pdf
13. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía técnica parte 2 Cultivo. 2008. <https://www.paho.org/es/documentos/manual-para-diagnostico-bacteriologico-tuberculosis-parte-1-manual-actualizacion>
14. **Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile.** Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. 2019. Disponible en: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Manual%20de%20procedimientos%20t%C3%A9cnicos%20para%20el%20diagn%C3%B3stico%20bacteriol%C3%B3gico%20de%20la%20TBC.pdf>

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

15. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 561 de 2019. Colombia. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resolución%20No.%20561%20de%202019.pdf
16. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 1619 de 2015. Colombia. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-1619-del-2015.PDF>
17. **Global Laboratory Initiative.** Mycobacteriology Laboratory Manual. 2014. Disponible en: https://stop.tb.org/wg/gli/assets/documents/gli_mycobacteriology_lab_manual_web.pdf
18. **Foundation for Innovative.** New Diagnostics. MGIT™ Procedure Manual. 2006. Disponible en: https://www.finddx.org/wp-content/uploads/2023/02/20061101_rep_mgit_manual_FV_EN.pdf
19. **Global Laboratory Initiative.** Laboratory Diagnosis of Tuberculosis Sputum Microscopy. 2013. Disponible en: https://stop.tb.org/wg/gli/assets/documents/tb%20microscopy%20handbook_final.pdf
20. **Foundation for Innovative.** New Diagnostics. MGIT™ Procedure Manual. 2006. Disponible en: https://www.finddx.org/wp-content/uploads/2023/02/20061101_rep_mgit_manual_FV_EN.pdf
21. **Secretaría Distrital de Salud.** Manual para la toma de muestras para análisis microbiológico. 2008. Disponible en: <https://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/Manual%20Toma%20Muestras.pdf>
22. **Organización Panamericana de Salud.** Manual práctico sobre el procesamiento de muestras de heces para el diagnóstico de la TB infantil. 2022. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/manual-practico-sobre-procesamiento-muestras-heces-para-diagnostico-tb-infantil>
23. **Organización Mundial de la Salud.** Guidance on regulations for the transport of infectious substances. 2023. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720>
24. **Organización Mundial de la Salud.** Manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis. 2012. disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/manual-bioseguridad-laboratorio-tuberculosis-2013>
25. **Global Laboratory Initiative.** Trabajo seguro en torno a la tuberculosis. Manual de seguridad en el laboratorio. Edición mundial 2022. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55750>
26. **Organización Mundial de la Salud.** Operational handbook on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed. 2024. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240089501>
27. **Organización Mundial de la Salud.** Consolidated guidelines on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed. 2024. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240089488>
28. **Treatment Action Group.** Pipeline Report. Tuberculosis Diagnostic. 2023. Disponible en: https://www.treatmentactiongroup.org/wpcontent/uploads/2023/11/2023_pipeline_TB_diagnosics_final.pdf
29. **Ministerio de Salud y Protección social.** Resolución 2718 de 2024. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/POS/paginas/plan-obligatorio-de-salud-pos.aspx>
30. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Plan estratégico hacia el fin de la tuberculosis Colombia 2016 – 2025 Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/INTOR/Plan-estrategico-fin-tuberculosis-colombia-2016-2025.pdf>
31. **Abbott.** Instrucciones de uso. Abbott RealTime MTB y MTB RIF/INH Resistance.

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia



Avenida Calle 26 # 51 - 20 / Bogotá D.C. - Colombia



PBX: (601) 220 77 00 / exts. 1101 - 1214



contactenos@ins.gov.co

32. **Organización Mundial de la Salud.** Information sheet: Practical considerations for implementation of the Abbott RealTime MTB and Abbott RealTime MTB RIF/INH tests Disponible en: <https://www.stoptb.org/file/10466/download>.
33. **Gencell Pharma.** Instrucciones de uso Accupower. Disponible en: https://gencellpharma.com/wp-content/uploads/2021/08/Bionner_GencellPharma.pdf.
34. **Seegene Anyplex.** Instrucciones de uso MTB/MDR II / MTB/XDR MTB/NTM Screening & Drug-Resistant TB Detection using Real-time PCR. Disponible en: [Anyplex-II-TBC.pdf \(annardx.com\)](https://www.seegene.com/assays/allplex_mtb_mdr_xdre_detection)
35. **Seegene Allplex** Instrucciones de uso Allplex™ MTB/MDR/XDR Detection. Disponible en: https://www.seegene.com/assays/allplex_mtb_mdr_xdre_detection.
36. **Organización Mundial de la Salud.** Information sheet: Practical considerations for implementation of the BD MAX MDR-TB test. Disponible en: <https://www.stoptb.org/file/10473/download>.
37. **Becton Dickinson.** Instrucciones de uso. BD MAX MDR-TB. 2022. Disponible en: https://static.bd.com/documents/eifu/P0228_ZMG_E_SD_P0228_ES.pdf.
38. **Organización Mundial de la Salud.** Practical considerations for implementation of the Roche cobas MTB and cobas MTB-RIF/INH assays. Disponible en: <https://www.stoptb.org/file/10477/download>.
39. **Roche.** Instrucciones de uso. Roche cobas MTB and cobas MTB-RIF/INH. Disponible en: <https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/api/downloads/b8587a6c-7970-ef11-2691-005056a772fd?countryIsoCode=be>.
40. **ELITechGroup.** Instrucciones de uso. MDR/MTB ELITe MGB® Kit. 2020. Disponible en: https://www.elitechgroup.com/documentation/wp-content/uploads/sites/30/2022/09/SCH-mCTR120ING_02_es.pdf.
41. **Gencell.** Instrucciones de uso. IRON-qPCR™. 2024
42. **Global Laboratory Initiative.** Practical Guide to Implementation of Truenat™ Tests. 2021. Disponible en: <https://www.stoptb.org/who-we-are/stop-tb-working-groups/global-laboratory-initiative-gli/gli-guidance-and-tools/practical-guide-implementation-truenat-tests>.
43. **Organización Mundial de la Salud.** Practical considerations Information sheet: Practical considerations for implementation of the Cepheid Xpert MTB/XDR test. Disponible en: <https://www.stoptb.org/file/10481/download>
44. **Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile.** Guía técnica para cultivo de Micobacterias en medio líquido. 2018. Disponible en: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/GU%C3%8DA%20T%C3%89CNICA%20PARA%20CULTIVO%20DE%20MICOBACTERIAS%20EN%20MEDIO%20L%C3%8DQUIDO.pdf>
45. **Seegene Anyplex.** Instrucciones de uso MTB/NTM Screening & Drug-Resistant TB Detection using Real-time PCR. Disponible en: [Anyplex-II-TBC.pdf \(annardx.com\)](https://www.seegene.com/assays/allplex_mtb_mdr_xdre_detection)
46. **Fujirebio.** Instrucciones de uso. INNO-LiPA® MYCOBACTERIA v2. 2017.
47. **Gomez T, Llerena C, Zabaleta A.** Evaluación de la técnica BD MGIT™ TBc® para identificación del complejo Mycobacterium tuberculosis. Rev. salud pública. 16 (5): 765-771, 2014
48. **Abbott.** Instrucciones de uso. Bioline™ TB Ag MPT64
49. **SEIMC.** Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica. 2019. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia65.pdf>
50. **Becton Dickinson.** BD BACTEC™ MGIT™ Manual de usuario del instrumento. 2021. Disponible en: https://static.bd.com/documents/eifu/MA0117_ZLU_C_SD_MA0117_ES.pdf

51. **Biomerieux.** Manual del usuario. SISTEMA DE REACTIVO BACT/ALERT®MP. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/476189550/BACT-ALERT>
52. **Zhang, M. Li, D. De Hu, Z. Lan Huang, Y.** The diagnostic utility of pleural markers for tuberculosis pleural effusion. *Ann Transl Med* 2020;8 (9):607. DOI:10.21037/atm.2019.09.110.
53. **Chaves W, Buitrago J, Dueñas A, Bejarano J.** Acerca de la tuberculosis extrapulmonar. *Repertorio de Medicina y Cirugía.* Vol 26, Issue 2, 2017, DOI: 10.1016/j.reper.2017.04.004
54. **ORAS – CONHU.** Guía técnica para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis – Parte 3 Pruebas de sensibilidad. Programa “Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas”. Lima. 2018. 178 páginas. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/guia-tecnica-para-diagnostico-bacteriologico-tuberculosis-parte-3-pruebas-sensibilidad>.
55. **Organización Mundial de la Salud.** Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis. 2021. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/meeting-report-of-the-who-expert-consultation-on-the-definition-of-extensively-drug-resistant-tuberculosis>.
56. **Organización Mundial de la Salud.** Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-TB-2018.5>.
57. **Organización Mundial de la Salud.** Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 1: Prevención. Tratamiento preventivo de la tuberculosis. 2022. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55801>
58. **Organización Panamericana de la Salud.** Guía para la aplicación y lectura de la prueba de tuberculina. 2012. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/1guia-tecnica-aplicacion-de-ppd.pdf>.
59. **Organización Mundial de la Salud.** Operational handbook on tuberculosis: module 3: diagnosis: Test for tuberculosis infection. 2022. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240058347>
60. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía técnica. parte 1 Baciloscopia. 2008.
61. **OHRAS – CONHU.** Guía técnica para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis – Parte 1 Manual de actualización de la baciloscopia. Programa “Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas”. Lima. 2018. 88 páginas. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=guias-9705&alias=48215-manual-para-el-diagnostico-bacteriologico-de-la-tuberculosis- parte-1-manual-de-actualizacion-de-la-baciloscopia-2018&Itemid=270&lang=es.
62. **ORAS – CONHU.** Guía técnica 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. Programa “Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la Región de las Américas”. Lima. 2019. 316 páginas. Disponible en: https://www.orasconhu.org/sites/default/files/file/webfiles/doc/Manual_de_calidad_PROGRAMA_TB.pdf.
63. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Decreto 780 de 2016, Decreto Único Reglamentario del Sector Salud y Protección Social. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Decreto%20780%20de%202016.pdf.

64. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 1646 de 2018. Disponible en: www.ins.gov.co/Normatividad/Resoluciones/RESOLUCION%201646%20DE%202018.pdf
65. **Instituto Nacional de Salud.** Anexo técnico Resolución 1646 de 2018. Disponibles en: www.ins.gov.co/Normatividad/Resoluciones/RESOLUCIÓN%201646%20DE%202018%20-%20VER%20ANEXO%20TÉCNICO.pdf
66. **Global Laboratory Initiative.** Framework of indicators and targets for laboratory strengthening under the end TB strategy. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250307/9789241511438-eng.pdf;jsessionid=5D2EF5EB87A406FCF3CF7BE7CBCC1ED1?sequence=1>



www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

ANEXOS

Anexo 1. Métodos de procesamiento de heces para el diagnóstico de TB infantil

	Método OFS	Método SOS
Principio	El método flotación optimizada con sacarosa (OFS) Crea un gradiente de densidad de sacarosa lo que permite la separación de <i>M. tuberculosis</i> de los restos fecales.	El método sencillo de procesamiento de heces en una sola etapa (SOS), se basa en la separación de <i>M. tuberculosis</i> de las partículas fecales por gravedad, flotando los bacilos en la solución acuosa y dejando las partículas en el fondo.
Requisitos de bioseguridad	La etapa de separación antes de inactivación produce una concentración mínima de bacilos por lo que se puede realizar este método en un espacio abierto y bien ventilado con prácticas adecuadas de reducción de la formación de aerosoles y el uso apropiado de equipo de protección personal.	Este método añade directamente la muestra al reactivo de trabajo del kit Xpert®; por lo que las muestras se inactivan inmediatamente, por lo tanto, se puede trabajar en un espacio abierto y bien ventilado con prácticas adecuadas de reducción de la formación de aerosoles y el uso apropiado de equipo de protección personal.
Procedimiento	1. Añadir 0,5 g de heces a 10 ml de solución de Sheather y agitar 20 veces 2. Dejar que sedimente durante 30 minutos 3. Transferir 0,5 ml de la parte superior de la muestra a un tubo Falcon de 15 ml y añadir 1,8 ml de reactivo para muestras y agitar enérgicamente 20 veces 4. Incubar y transferir al cartucho Xpert® Ultra.	1. Verificar la consistencia de las heces mediante la escala de Bristol. 2. En caso de ser heces consistentes (tipo 1a a 5 escala) se transfieren 0.8g de heces al frasco de reactivo de Xpert 3. En caso de ser heces líquidas (Tipo 6 a 7 escala) transferir 2 mL de la muestra. A 2ml de reactivo de Xpert. 4. Agitar 30 segundos y dejar reposar 10 minutos. 5. Asegurarse que los restos sólidos se han asentado 6. Transferir 2 mL del sobrenadante al cartucho de Xpert® Ultra.

Anexo 2. Solicitud de Exámenes LNR de Micobacterias INS.

Solicitud de exámenes LNR Micobacterias - INS									
Número de LabMuestras	Nombres y Apellidos	Número de identificación	Información de la muestra y/o cultivo			Antecedentes de tratamiento y/o factores de riesgo asociado	Identificación de especie realizada en el LSPD* y/o LC**	Patrón de resistencia informado por el LSPD* y/o LC**	Pruebas solicitadas
			Material enviado Cultivo / Muestra	Origen tipo de muestra	Lugar anatómico				

www.ins.gov.co



@INSColombia



@insaludcolombia



Instituto Nacional de Salud de Colombia

Anexo 3. Procedimiento para la preparación de las soluciones descontaminantes

La preparación de estas soluciones se deben utilizar los EPP indicados en las fichas de seguridad de los reactivos a utilizar.

Solución NALC NaOH

Reactivo	Cantidad
Hidróxido de sodio (NaOH)	20 g
Citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	14,5 g
Agua destilada estéril	1000 mL

- Fraccionar en tubos, botellas o frascos conteniendo no más de 50 mL cada uno. Esta cantidad es adecuada para el procesamiento, en promedio, cerca de 12 muestras.
- Fraccionar en alícuotas menores si la cantidad de muestras a procesar en el día es menor a 12
- Esterilizar las botellas en autoclave 15 minutos a 121°C.
- Rotular con el nombre del reactivo y fecha de preparación.
- Guardar en refrigeración.
- En el momento de uso agregar 0,25 g de N-acetil L-cisteína a cada 50 mL de solución.
- Mezclar suavemente y utilizar

Buffer fosfato pH 6,8 M/15

	Reactivo	Cantidad
Solución 1	Fosfato disódico anhidro (HNa_2PO_2)	9,46 g
	Agua destilada estéril	1000 mL
Solución 2	Fosfato monopotásico KH_2PO_4	9,08 g
	Agua destilada estéril	1000 mL

Preparar la solución 1 y 2, calentando ligeramente cada una por separado hasta lograr completa disolución de las sales.

- Mezclar igual volumen de la solución 1 y 2
- Controlar el pH 6,8
- Para procesar muestras, fraccionar el buffer así preparado en botellas o frascos conteniendo no más de 200 mL cada uno. Esta cantidad es adecuada para el procesamiento de 12 muestras
- Esterilizar las botellas en autoclave 15 minutos a 121°C.
- Rotular con el nombre del buffer y fecha de preparación
- Guardar en refrigeración