

GUÍA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE TUBERCULOSIS

DIRECCIÓN DE REDES EN SALUD PÚBLICA

SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE
REFERENCIA

GRUPO DE MICOBACTERIAS

2017

1



GOBIERNO DE COLOMBIA



Dirección

Martha Lucía Ospina
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

María Alexandra Durán Romero
Director Técnico (E) Redes en Salud Pública

Rosa Elvinia Rodríguez Rodríguez
Subdirectora (E)
Laboratorio Nacional de Referencia

Coordinador del Grupo
Claudia Llerena Polo
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Profesionales
Sandra Milena Barrera Ayala.
Equipo Técnico Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Claudia Llerena Polo
Grupo de Micobacterias
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SLNR)
Dirección Redes en Salud Pública

Angie Paola Zabaleta Vanegas
Grupo de Micobacterias
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SLNR)
Dirección Redes en Salud Pública

Tabla de contenido

Objetivos de la Guía	4
Alcance	5
Definiciones, Siglas, Abreviaturas y Acrónimos	6
1. Generalidades	7
1.1. Agente etológico	7
1.2. Modo de transmisión	7
1.3. Prevención	7
2. Diagnóstico por Laboratorio	8
2.1. Bioseguridad	8
2.2. Tipos de muestras, recolección y conservación	8
2.3. Transporte de muestras o cultivos	9
2.4. Documentación requerida	10
2.5. Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico de <i>M. tuberculosis</i>	10
Otras pruebas de PCR	14
Otras pruebas de Laboratorio	15
3. Control de Calidad	15
4. Vigilancia de los Agentes Infecciosos	16
5. Estructura y Funciones de la Red Nacional de Laboratorios para el Evento	16
Funciones del Laboratorio de salud pública (LSP)	17
Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local según corresponda.	17
Flujo de información:	18
Referencias Bibliográficas	19
Anexos	20

Objetivos de la Guía

Describir los lineamientos técnicos y el proceso de vigilancia por laboratorio de *Mycobacterium tuberculosis*.

Establecer los procesos de obtención, conservación y transporte de las muestras y cultivos para la detección de *Mycobacterium tuberculosis*.

Describir los fundamentos técnico-científicos de los métodos de ensayos empleados para el diagnóstico por laboratorio de *Mycobacterium tuberculosis*.

Describir los criterios técnico-operativos para la participación en el programa interlaboratorio de control de calidad para la evaluación del desempeño directo e indirecto de los métodos de diagnóstico de tuberculosis.

Precisar cómo se articula la red nacional de laboratorios para la vigilancia por laboratorio del *Mycobacterium tuberculosis*, así como describir las funciones y responsabilidades en cada uno de los niveles.

Alcance

La presente guía aplica para las actividades de diagnóstico y vigilancia de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* realizados por la Red Nacional de Laboratorios del país.



Definiciones, Siglas, Abreviaturas y Acrónimos

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.

Bioseguridad: principios, tecnologías y prácticas de contención aplicadas, para prevenir la exposición accidental a patógenos y toxinas, o su liberación involuntaria.

CSB: Cabina de Seguridad Biológica

CUPS: Código Único de Prestación de Servicios

EED: Evaluación Externa del Desempeño

EEDD: Evaluación Externa del Desempeño Directa

EEDI: Evaluación Externa del Desempeño Indirecta

Filtro HEPA: filtro de aire de alta eficiencia, denominado así por sus siglas en inglés High Efficiency Particle Arrestance. Compuesto por una malla de fibras de vidrio y con diámetros entre 0,5 y 2,0 μm que retienen partículas y contaminantes.

HIV: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

INS: Instituto Nacional de Salud

LC: Laboratorio clínico

LJ: Löwenstein Jensen

LNR: Laboratorio Nacional de Referencia

LSNR: Laboratorio Supranacional de Referencia

LSP: Laboratorio de Salud Pública

MGIT: Tubo Indicador de Crecimiento de Micobacterias

MNT: Micobacterias No Tuberculosas

MSPS: Ministerio de Salud y Protección Social

OADC: suplemento de enriquecimiento compuesto por ácido oleico, albúmina, dextrosa y catalasa.

OK: Ogawa Kudoh

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

Proteína MPT64: fracción proteica micobacteriana de 24 kDa segregada específicamente por el Complejo *Mycobacterium tuberculosis* durante su desarrollo en medios de cultivo.

POS: Plan Obligatorio de Salud

TB farmacorresistente (TB FR): caso de TB causada por el Complejo *M. tuberculosis*, cuyas pruebas de susceptibilidad muestran un patrón de resistencia *in vitro* a los fármacos antituberculosos.

TB Multirresistente (TB MDR): caso de TB causada por el Complejo *M. tuberculosis*, cuyas pruebas de susceptibilidad muestran un patrón de resistencia *in vitro* tanto a isoniazida como a rifampicina simultáneamente, con presencia o no de resistencia a otros fármacos antituberculosos.

RNL: Red Nacional de Laboratorios

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

Sivigila: Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública

STG: Stonebrink modificado por Giraldo

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

UPS: Por sus siglas en inglés "Uninterruptible Power Supply" ó respaldo de energía in interrumpible.

ZN: Ziehl Neelsen

1. Generalidades

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa crónica producida por micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, con diversas manifestaciones clínicas y amplia distribución mundial, es un importante problema de salud pública y se ubica como la segunda causa de muerte por enfermedades infecciosas en todo el mundo, después del HIV (1).

1.1. Agente etológico

El complejo *Mycobacterium tuberculosis* está conformado por las especies: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii*, *M. mungi*, *M. orygis* y *Mycobacterium suricattae*. Estos son bacilos largos, de 3 a 5 µm de longitud, inmóviles, no esporulados, con abundantes gránulos citoplasmáticos; la pared contiene una elevada proporción de lípidos y es muy rica en ácidos micólicos, que le dan característica de ácido-alcohol resistencia. Son microorganismos estrictamente aerobios, que cubren 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. Se adaptan fácilmente a soluciones con sales simples, iones de amonio como fuente de nitrógeno, y glucosa como fuente de carbono (2, 3).

1.2. Modo de transmisión

El principal reservorio es el hombre que puede presentar o no la enfermedad; la principal vía de transmisión es la aérea; siendo más contagiosas las personas que presentan baciloscopia positiva, al hablar, cantar, reír, estornudar y toser, eliminando pequeñas microgotas, en forma de aerosoles, con micobacterias. Sin embargo algunos animales pueden ser reservorios como el ganado bovino lo es de *Mycobacterium bovis* (3).

El tiempo de incubación es indefinido, se estima que de 2 a 10 semanas puede aparecer una lesión primaria demostrable o una reacción tuberculínica significativa desde el momento de la infección; en algunas personas puede permanecer latente toda la vida, sin presentar manifestaciones (3).

Existen algunos factores que aumentan el riesgo de infección y el desarrollo de la enfermedad como la viabilidad, transmisibilidad y virulencia del bacilo. Respecto al huésped, el estado inmune, susceptibilidad genética, duración e intensidad de la exposición; y de la interacción bacilo-huésped como el lugar de afectación y gravedad de la enfermedad (3, 4).

1.3. Prevención

La mejor manera de prevenir la tuberculosis es proporcionando un adecuado tratamiento y curando todos los casos contagiosos, con el fin de actuar directamente sobre las fuentes de infección. Se espera que cuando se haya trabajado en estos dos aspectos, se intervenga sobre el reservorio endógeno, ofertando quimioprofilaxis a las personas infectadas con riesgo de padecer la enfermedad. La vacunación con BCG, no tiene impacto sobre el control de la endemia en la comunidad, pero es recomendada para la disminución de la mortalidad infantil por tuberculosis (3).

2. Diagnóstico por Laboratorio

2.1. Bioseguridad

Es la aplicación de una combinación de: controles administrativos, principios de contención, prácticas y procedimientos de laboratorio, equipos de seguridad, preparación para emergencias e instalaciones de laboratorio que permitan a los trabajadores trabajar con seguridad ante los microorganismos potencialmente infecciosos (6).

Para los laboratorios de tuberculosis, las condiciones de bioseguridad varían de acuerdo al procedimiento que se realiza (Tabla 1).

Tabla 1. Requisitos mínimos de bioseguridad en el diagnóstico de tuberculosis

Actividad	Nivel de Riesgo	Requisito
Baciloscopia, inoculación de muestras en medio de Ogawa, procesamiento de muestras para pruebas moleculares PCR en sistema cerrado.	Bajo	Renovación de aire mediante ventilación natural o mecánica. Uso de elementos de protección personal. Buenas Prácticas de Laboratorio.
Procesamiento de muestras para pruebas de susceptibilidad por LIPA.	Medio	CSB Clase II con ducto al exterior certificada. Uso de elementos de protección personal. Buenas Prácticas de Laboratorio.
Procesamiento de muestras concentradas para cultivo en medio líquido o sólido. Procesamiento de cultivos positivos para identificación y/o prueba de susceptibilidad.	Alto	CSB Clase II con ducto al exterior certificada ubicada en un laboratorio de contención de riesgo biológico con ventilación adecuada (6-12 recambios de aire/hora) que asegure presión negativa. Uso de elementos de protección personal. Buenas Prácticas de Laboratorio para un nivel de seguridad BSL3.

Para ampliar información ver “Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Tuberculosis, de OPS” (6).

2.2. Tipos de muestras, recolección y conservación

Las muestras pueden ser clasificadas según el contenido de: flora acompañante y bacilos (Tabla 2).

Para información acerca de la obtención, transporte y conservación de las muestras ver Anexo 1 y 2.

Tabla 2. Clasificación de las muestras para diagnóstico de tuberculosis

Contenido de la flora acompañante	Contenido de BAAR
<p>Muestras estériles Son aquellas que por su origen no contienen flora acompañante y no deben ser descontaminadas antes de realizar el cultivo, éstas son: Líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico o peritoneal, líquido sinovial o articular, líquido pericárdico, sangre y biopsias de cavidad cerrada</p> <p>Muestras contaminadas Son aquellas que por su origen contienen flora acompañante y deben ser descontaminadas antes de realizar el cultivo, éstas son: Espujo, lavado gástrico, lavado broncoalveolar, secreciones, biopsia de piel, orina y materia fecal</p>	<p>Muestras multibacilares Son aquellas en que por su contenido de bacilos, la baciloscopia es positiva.</p> <p>Muestras paucibacilares Son aquellas en que por su contenido de bacilos la baciloscopia es negativa.</p>

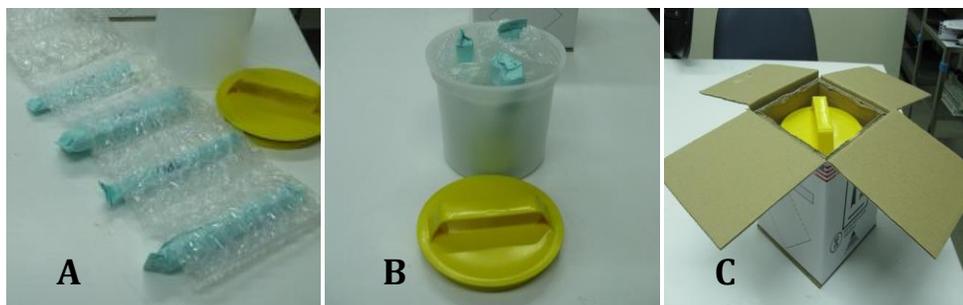
Las muestras contaminadas se deben someter a un proceso de descontaminación que tiene por objeto eliminar la flora acompañante y, a la vez, permitir la homogeneización. Las muestras paucibacilares deben ser procesadas con métodos que además permitan la concentración de los bacilos mediante centrifugación, con el fin de aumentar la sensibilidad de los métodos de diagnóstico.

2.3. Transporte de muestras o cultivos

En Colombia los lineamientos para el envío de muestras y cultivos, están descritos en la circular Transporte de muestras biológicas Aero civil-INS; donde están los requisitos legales adoptados del reglamento de las Naciones Unidas, en ella están los procedimientos para el traslado por vía aérea de muestras para el análisis de eventos de interés en salud pública.

Este transporte de muestras y asilamientos para diagnóstico de tuberculosis se debe hacer en sistema triple embalaje (Figura 1) (5).

Figura 1. Sistema triple embalaje: A. recipiente primario, B. recipiente secundario, C. recipiente terciario.



La RNL cuenta con laboratorios de primer nivel y segundo nivel que, en caso de no tener capacidad de incubar se remite a laboratorios de mayor complejidad o al LSP para la incubación y lectura.

Algunas instituciones de tercer nivel tiene la capacidad de realizar además de baciloscopia y cultivo, identificación y pruebas de sensibilidad, aquellos pacientes que presenten resistencia por cualquier método se deben enviar los cultivos de al LSP para que este remite al INS con el fin de confirmar el patrón de resistencia y hacer la vigilancia de la resistencia a fármacos de segunda línea.

En caso de que la entidad territorial no cuente con instituciones que realicen identificación y pruebas de sensibilidad, se deben remitir los cultivos al LSP y aquellos que no tengan la capacidad para hacer estos procesos los deben enviar al LNR.

Los cultivos enviados deben identificarse en la parte posterior con el nombre del paciente, código de la muestra y fecha de siembra, se debe escribir de forma clara y con tinta indeleble.

2.4. Documentación requerida

Los documentos que deben ser remitidos al INS para solicitud de los ensayos son la carta de solicitud del LSP con la relación de los cultivos y el formato único de vigilancia de las Micobacterias FOR-R01.5320-001 (Anexo 1).

2.5. Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico de *M. tuberculosis*

Los métodos de diagnóstico más usados en el país son la baciloscopia y el cultivo que se realizan de forma programática, se han incorporado otros métodos rápidos recomendados por la OMS/OPS, como la microscopia de fluorescencia, el cultivo en líquido, y aquellos que se realizan basados en Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), para diagnóstico de casos y tamización de resistencia, mediante la detección de mutaciones como el Sistema Xpert® y las sondas en línea (Line Probe Assay – LIPA por sus siglas en inglés) y otras PCR.

Todas estas pruebas se encuentran incluidas en el listado de procedimientos del POS (Tabla 3).

Tabla 3. Exámenes de diagnóstico de tuberculosis y CUPS incluidos en el POS, según resolución 5976 de 2016.

Código	Descripción del Procedimiento
901007	<i>Mycobacterium</i> prueba de sensibilidad
901111	Baciloscopia coloración Acido Alcohol Resistente
	Baciloscopia Bacilos Acido Alcohol Resistentes lectura seriada tres muestras
901101	Coloración Acido Alcohol Resistente modificada y lectura de baciloscopia
901102	Coloración Acido Alcohol Resistente modificada y lectura de baciloscopia
901214	Cultivo para micobacterias en medula ósea
901230	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> cultivo
901229	Cultivo Micobacterias no tuberculosas
901313	<i>Mycobacterium</i> , identificación
903401	Adenosina deaminasa
906032	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , anticuerpos IgM semiautomatizado o automatizado
908825	<i>Mycobacterium</i> , identificación por PCR
908827	Micobacterias no tuberculosas, identificación reacción en cadena de polimerasa
908846	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , prueba de sensibilidad reacción en cadena de la polimerasa

2.5.1. Baciloscopia

Es la búsqueda microscópica de BAAR en cualquier espécimen clínico mediante la coloración de Ziehl Neelsen, Kinyoun o de auramina-rodamina. Este procedimiento se utiliza en el laboratorio para diagnóstico rápido de casos y control al tratamiento de la tuberculosis pulmonar en adultos, se puede realizar directamente o en sedimentos de muestras concentradas (7).

Para ampliar información acerca de estas técnicas ver “Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte I baciloscopia, de OPS” (7).

2.5.2. Cultivo

El cultivo es el método de diagnóstico bacteriológico de mayor sensibilidad, es más sensible que la baciloscopia, puede evidenciar de 10 a 100 BAAR en una muestra, es el único método válido para seguir la evolución de los casos y confirmar su curación. Para tuberculosis extrapulmonar, es el mejor método de diagnóstico. Su uso permite la identificación de especie y realización de pruebas de sensibilidad a los fármacos anti tuberculosis.

Existen diferentes medios de cultivo para micobacterias, están los que se preparan a base de huevo (LJ, OK, STG), que requieren incubación a 37°C hasta las ocho semanas; los medios sintéticos (Middlebrok 7H9 y 711) y los caldos con sensores de desarrollo bacteriano (MGIT y MB/BacT), técnicas semi automatizadas que producen resultados de 14 a 21 días.

Para el cultivo de muestras extrapulmonares se deben utilizar medios de cultivo en los que se realice concentración de la muestra como lo son el medio líquido y LJ; el cultivo en OK se debe utilizar solamente para muestras de esputo en laboratorios que no tengan infraestructura y bioseguridad para realizar el proceso de concentración de las muestras.

Los laboratorios que preparan éstos medios deben realizar control de calidad a cada uno de los lotes producidos, verificando la sensibilidad para detectar la micobacteria, según lo establecido en el “Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte II cultivo, de OPS”, los laboratorios que comprenden los medios, deben exigir al proveedor el certificado de calidad del lote utilizado (8).

Para ampliar información acerca de éstos métodos ver “Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte II cultivo, de OPS” (8).

Métodos de descontaminación

Permiten eliminar la flora microbiana acompañante, y homogeneizar la muestra, previo a la inoculación en los medios de cultivo. Los métodos más utilizados son el de Petroff modificado, bromuro o cloruro de cetilpiridinio al 1%, N-acetil L-cisteína hidróxido de sodio e hidróxido de sodio de Kudoh. La selección de uno de estos métodos depende el medio de cultivo que se utilice.

Para ampliar información acerca de estas técnicas ver “Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte II cultivo, de OPS” (8).

2.5.3. Identificación fenotípica de complejo *Mycobacterium tuberculosis*

La identificación o determinación de especie es de gran importancia debido a que existen otras micobacterias que son agentes etiológicos de enfermedades respiratorias y esto permite que se inicie un tratamiento adecuado.

Existen pruebas de inmunoanálisis cromatográfico aprobados por la OMS/OPS, que detectan el antígeno MPT64 que segrega el complejo *M. tuberculosis* en el medio de cultivo, permitiendo su identificación.

También se encuentran técnicas de PCR, que presentan mayores costos, sin embargo son rápidas y muy específicas, se debe hacer una interpretación clínica cuidadosa de un resultado positivo,

debido a que en la actualidad el LNR informa la especie de MNT identificada y de su interpretación y correlación con los antecedentes del paciente, depende si el clínico inicia esquema de tratamiento o toma una nueva muestra para descartar que la micobacteria aislada no sea causada por una contaminación ambiental.

2.5.4. Pruebas moleculares para diagnóstico de tuberculosis y farmacorresistencia

Debido a que en la actualidad se cuenta con pruebas rápidas que buscan mejorar la oportunidad diagnóstica de los casos de TB y además favorecen la tamización de resistencia, sirviendo como ayuda diagnóstica, los países que opten por tener esta innovación diagnóstica, deben contar con:

- i) la infraestructura necesaria para realizar con calidad cada uno de los pasos de la prueba (pre mezcla, extracción, hibridación) cumpliendo con las buenas prácticas para laboratorios de biología molecular
- ii) el desarrollo de algoritmos de trabajo que orienten su empleo complementando los métodos convencionales, según la situación epidemiológica, necesidades y recursos existentes.
- iii) la validación/ verificación del método, en las condiciones definidas por el sistema de gestión de la calidad de cada laboratorio, para esto es fundamental apoyarse con los LSP y el LNR del INS
- iv) la implementación de un sistema permanente que permita conocer la calidad de los procedimientos técnicos, resultado e informe de resultados de la prueba diagnóstica.

Sistema cerrado de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Xpert® MTB/RIF)

Es un PCR cerrado en tiempo real que permite una mayor captación de casos de tuberculosis, debido a que es más sensible que la baciloscopia, captando 114 UFC/ml. Se puede realizar a partir de muestras de esputo y extrapulmonares como líquido cefalorraquídeo, ganglios linfáticos y muestras de tejidos (9 -12).

La OPS/OMS recomienda su uso en grupos de riesgo como personas con HIV, niños y en aquellos con mayor probabilidad de multiresistencia, debido que además de identificar el complejo *M. tuberculosis* detecta si hay mutaciones en el gen *rpoβ*, la cual confiere resistencia a la rifampicina y es un importante marcador de TB MDR.

Debe ser implementada en laboratorios periféricos, debido que el nivel de bioseguridad es igual que el de la baciloscopia. El tiempo de procesamiento de una prueba es dos horas, lo que favorece la obtención de resultados en un tiempo promedio de 24 horas, sin embargo en la actualidad se tienen en el mercado una versión de los cartuchos con mayor sensibilidad (Xpert Ultra), la cual permite detectar 16 UFC/ml, con algunas ventajas más en el tiempo de proceso y el reconocimiento de mutaciones silenciosas, los países deben generar un plan de trabajo para su implementación como prueba diagnóstica (9 -12).

Para ampliar información acerca de esta técnica ver “Xpert MTB/RIF implementation manual” y “Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children” (9, 10).

Amplificación e hibridación con Sondas en Línea (LIPA)

Esta técnica permite tamizar resistencia en muestras de esputo en especial cuando la baciloscopia es positiva y de cultivos positivos, permite identificar complejo *M. tuberculosis* y determina las mutaciones más frecuentes asociadas a los fármacos isoniazida (genes *inhA* y *KatG*) y rifampicina (gen *rpoβ*).

En mayo de 2016 la OMS emite una nueva recomendación encaminada a acelerar la detección de la TB MDR, mediante el uso de ésta técnica para la detección de resistencia a quinolonas e inyectables de segunda línea en pacientes con TB MDR, en un tiempo más rápido (24 a 48 horas), comparado con los métodos utilizados actualmente (14).

Para ampliar información acerca de esta técnica ver “The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs” (13, 14).

Otras pruebas de PCR

En la actualidad existen varios métodos de diagnóstico de TB y TB FR disponibles en el mercado, aunque estos no tienen una política de recomendación por parte de la OMS; son pruebas que pueden funcionar como tamiz al igual que las descritas previamente, es decir que la referencia y contra referencia de información y cultivos para confirmación del patrón de resistencia a través del LNR del INS.

2.5.5. Pruebas de sensibilidad por métodos convencionales

Método de proporciones en medios de cultivo sólidos

Mide la proporción entre el número de UFC que crecen en un medio que contiene fármaco y el número de UFC que crecen en medio libre de fármaco. Determinando la proporción de mutantes resistentes de *M. tuberculosis* a cada fármaco y su sensibilidad. La prueba se puede realizar en medio LJ y Middlebrook 7H10.

Método de Bactec™ MGIT™ 960

La prueba se fundamenta en la acción de consumo de oxígeno por parte de *M. tuberculosis* en medio Middlebrook 7H9 enriquecido con OADC, que libera la fluorescencia de un compuesto de rutenio contenido en el fondo del tubo, permitiendo detectar su viabilidad expuesto a los fármacos y determinar si es sensible o resistente.

El LNR recomienda que los LC que implementen esta técnica para determinación de sensibilidad, solo evalúen los fármacos isoniazida y rifampicina y en caso de detectar resistencia enviar el cultivo al LSP para que este lo remita al LNR para evaluar otros fármacos como etambutol, pirazinamida, quinolonas e inyectables.

Otras pruebas de Laboratorio

Existen en la actualidad otros métodos de laboratorio como:

- Determinación de Adenosina Deaminasa como ayuda diagnóstica en líquidos extrapulmonares, mediante la cual se da una orientación al clínico debido que está encima se aumenta en pacientes con TB
- Existen algunas pruebas serológicas en el mercado pero estas no son recomendadas para diagnóstico debido a que los resultados generan más confusión al momento de definir una conducta médica

Todas estas pruebas se deben realizar de acuerdo a los lineamientos definidos en las instituciones que ofertan este tipo de metodologías.

3. Control de Calidad

El decreto 2323 de 2006 en el capítulo uno de disposiciones generales, artículo tres define la Red Nacional de Laboratorios como un sistema técnico gerencial cuyo objeto es la integración funcional de los LNR, LSP, laboratorios clínicos, otros laboratorios, y servicios de toma de muestras y microscopía, para el desarrollo de actividades de vigilancia en Salud Pública, prestación de servicios, gestión de la calidad e investigación; en este documento se citan las competencias de los Laboratorios de Referencia de acuerdo a su nivel de acción en los eventos de interés en Salud Pública, por esto, los laboratorios que realicen nuevos métodos de diagnóstico de tuberculosis deben participar en los Programas de EED, éstos son obligatorios y buscan garantizar la calidad del proceso así como la referencia entre los diferentes niveles de la red, no tienen ningún costo y el valor agregado es el reconocimiento a nivel nacional de los procesos de cada institución en el diagnóstico de tuberculosis. (Tabla 4). El LNR anualmente hace un proceso de inscripción que va acompañado de un cronograma en el cual se especifica la fecha de llegada del panel y el tiempo de respuesta.

Tabla 4. Programas de Evaluación de Desempeño Red de tuberculosis

Prueba	Metodología de evaluación	Laboratorio evaluador	Laboratorio evaluado	Tipo de evaluación
Baciloscopia (coloración de ZN y auramina)	Envío de láminas de la rutina de trabajo	LSP	LC	Indirecta
	Lectura de un panel de láminas de referencia en el LNR	LNR-LSP	LSP-LC	Directa
Identificación de <i>M. tuberculosis</i>	Directa: envío de un panel anual de cepas de referencia para identificación de especie	LNR	LSP-LC	Directa
Pruebas de sensibilidad por métodos convencionales y moleculares	Envío de un panel anual de cepas de referencia igual al que el Laboratorio Supranacional de Referencia envía al LNR	LNR	LSP-LC	Directa

4. Vigilancia de los Agentes Infecciosos *Mycobacterium tuberculosis*.

La vigilancia de agente etiológico *Mycobacterium tuberculosis*, consiste en identificar y describir su circulación en variables relacionadas con sus características genóticas, su estacionalidad y los sitios en donde circula con el fin de suministrar información que permita orientar las acciones de prevención en especial primaria y secundaria así como estrategias de control.

De igual manera se definirán indicadores que permitirán resumir estos aspectos y publicarlos en forma periódica en informes técnicos así como la construcción de repositorios institucionales donde fácilmente se puedan obtener los microdatos y permitir su uso por la comunidad científica, médica, académica, administrativa del sistema de salud y el público en general”.

5. Estructura y Funciones de la Red Nacional de Laboratorios para el Evento

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 2323 de 2006, en el cual se define la estructura de la RNL y competencias de cada uno de los integrantes (15).

Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR)

- Apoyar al diagnóstico de farmacoresistencia a las entidades territoriales que no cuentan con metodologías de diagnóstico de sensibilidad.
- Realizar confirmación de patrones de resistencia de cultivos que resulten resistentes a isoniazida y/o rifampicina.
- Realizar vigilancia de la resistencia a fármacos de segunda línea.

- Realizar la EEDD de la baciloscopia a LSP e idoneidad en la identificación y PSF a LSP e instituciones públicas y privadas que realicen estas técnicas por métodos moleculares y convencionales.
- Consolidar información de la vigilancia de la farmacorresistencia realizada por la red de laboratorios del país.
- Brindar asesoría técnica al Ministerio de Salud y Protección Social para la formulación de políticas y lineamientos del evento.
- Elaborar informes, guías y documentos técnicos científicos.
- Difundir los lineamientos de remisión, transporte, conservación y procesamiento de muestras y cultivos.
- Realizar la estandarización y/o validación de las metodologías diagnósticas para su implementación en el país.
- Capacitar profesionales de la Red de Laboratorios.
- Participar en programas interlaboratorios internacionales o de ensayos de aptitud.

Funciones del Laboratorio de salud pública (LSP)

- Adoptar las políticas nacionales de la RNL.
- Participar en las EED con el LNR.
- Realizar EEDD y EEDI a las actividades de bacteriología de tuberculosis que realizan los laboratorios de su red de laboratorios.
- Mantener técnicas de diagnóstico actualizadas para tuberculosis y farmacorresistencia de acuerdo a las recomendaciones nacionales.
- Realizar el envío de muestras y cultivos al LNR para realizar pruebas de sensibilidad, en caso de no contar con estas técnicas.
- Difundir los lineamientos de remisión, transporte, conservación y procesamiento de muestras y cultivos a los laboratorios de su red
- Consolidar y enviar información de las actividades de vigilancia de la farmacorresistencia de su red al LNR.

Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local según corresponda.

- Informar a los laboratorios de salud pública las técnicas de diagnóstico que realizan en sus laboratorios para tuberculosis.
- Participar en EED de las actividades de bacteriología de tuberculosis con el LSP.
- Realizar la remisión de muestras y cultivos con la documentación establecida para la vigilancia del evento (FOR-R01.5320-001).
- Enviar al LSP información de los resultados de PSF realizadas, según lineamientos nacionales.

Los costos de envío de láminas y cultivos o muestras al LSP los deben asumir los laboratorios clínicos donde se toman las baciloscopias, y aquellos que se generen por el traslado al LNR del INS los asumen los LSP.

Referencias Bibliográficas

1. **World Health Organization.** Global Tuberculosis Control report 2014. Geneva: Switzerland, 2014.
2. **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, December 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1912.130268>
3. **Farga V, Caminero JA.** Tuberculosis 3ª edición. Mediterráneo, Santiago y Buenos aires. 2011. 483 páginas.
4. **Instituto Nacional de Salud.** Protocolo Vigilancia en Salud Pública Tuberculosis. 2014.
5. **Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2011–2012.** Coordinación del Reglamento Sanitario Transporte sustancias infecciosas. 2011.
6. **Organización Mundial de Salud.** Manual de bioseguridad en laboratorios de tuberculosis. 2013. WHO/HTM/TB/2012.11.
7. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte I baciloscopia. Normas y guía técnica. 2008.
8. **Organización Panamericana de la Salud.** Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Parte II cultivo. Normas y guía técnica. 2008.
9. **World Health Organization.** Xpert MTB/RIF implementation manual. 2013.
10. **World Health Organization.** Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy statement. 2013. WHO/HTM/TB/2013.16
11. **Global Laboratory Initiative, advancing TB diagnosis.** Planning for country transition to Xpert® MTB/RIF Ultra Cartridges. 2017
12. **World Health Organization.** WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. 2017
13. **World Health Organization** Molecular Line Probe Assays for Rapid Screening of Patients at Risk of Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB). Policy statement. 2008.
14. **World Health Organization.** The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Policy guidance. 2016.
15. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Decreto 2323 de 2006. Bogotá. 2006

Anexos

1. Recolección muestras tuberculosis pulmonar



2. Recolección muestras tuberculosis extrapulmonar



3. Formato Único de Vigilancia de las Micobacterias.

