



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud

# PROCEDIMIENTOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD EXTERNO DE BACILOSCOPIA PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS



Lima, 2012

## MINISTERIO DE SALUD DEL PERÚ

### MINISTRO

Alberto Tejada Noriega

### VICEMINISTRO

Enrique Jacoby Martínez

### INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

#### ALTA DIRECCIÓN

##### Jefe

Percy Minaya León

##### Subjefa

Nora Reyes Puma

#### ÓRGANOS DE LÍNEA

##### Centro Nacional de Alimentación y Nutrición

Director General  
Wilfredo Salinas Castro

##### Centro Nacional de Control de Calidad

Director General  
Ruben Tabuchi Matsumoto

##### Centro Nacional de Productos Biológicos

Director General  
Alberto Valle Vera

##### Centro Nacional de Salud Intercultural

Director General  
Oswaldo Salaverry García

##### Centro Nacional de Salud Ocupacional y Protección del Ambiente para la Salud

Directora General  
Estela Ospina Salinas

##### Centro Nacional de Salud Pública

Director General  
Pedro Valencia Vásquez

#### ÓRGANOS DE ASESORAMIENTO

##### Oficina General de Asesoría Técnica

Director General  
José Cárdenas Cáceres

##### Oficina General de Asesoría Jurídica

Directora General  
Kirla Echegaray Alfaro

##### Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica

Directora General  
Gabriela Minaya Martínez

#### ÓRGANOS DE APOYO

##### Oficina General de Administración

Director General  
José Arróspide Aliaga

##### Oficina General de Información y Sistemas

Director General  
Javier Vargas Herrera

## COMITÉ EDITOR

### INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

#### PRESIDENTE

César Cabezas Sánchez

#### MIEMBROS

Rosario Belleza Zamora  
Zuño Burstein Alva  
Daniel Cárdenas Rojas  
Flor Fuentes Paredes  
Lucio Huamán Espino  
Charles Huamaní Saldaña  
Oswaldo Salaverry García  
Diana Vergara Núñez  
Liliana Vigil Romero

#### Secretaría Técnica

Bertha Huarez Sosa

### PROGRAMA DE APOYO A LA REFORMA EN EL SECTOR SALUD - PARSALUD II

Coordinadora General  
Paulina Giusti Hundskopf

Coordinador Técnico  
Walter Vigo Valdez

Coordinadora del Proyecto Octava  
Ronda Fondo Mundial  
Rosa Inés Béjar Cáceres

Especialista en Laboratorio  
Jessica Alvarado Guerrero



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional  
de Salud

PROCEDIMIENTOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD  
EXTERNO DE BACILOSCOPIA PARA EL DIAGNÓSTICO  
BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS

ELABORADO POR:

Luis Asencios Solís.

Neyda Quispe Torres.

Lucy Vásquez Campos

LIMA, 2012

Catalogación hecha por el Centro de Información y Documentación Científica del INS

**Procedimientos para el control de calidad externo de baciloscopía para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis / Elaborado por Luis Asencios Solís, Neyda Quispe Torres y Lucy Vásquez Campos. -- Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2012. 81 p. : graf., tab. 14.5 x 22.5 cm.**

1. CONTROL DE CALIDAD 2. BACILOSCOPIA 3. TUBERCULOSIS 4. PERÚ

- I. Asencios Solís, Luis
- II. Quispe Torres, Neyda
- III. Vásquez Campos, Lucy
- IV. Perú. Ministerio de Salud
- V. Instituto Nacional de Salud (Perú)

ISBN: 978-612-310-005-6

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2012-05964

1ra. Edición

Tiraje: 200 ejemplares

© Ministerio de Salud, 2012

Av. Salaverry cuadra 8 s/n, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (511) 431-0410

Telefax: (511) 315-6600 anexo 2669

Página web: [www.minsa.gob.pe](http://www.minsa.gob.pe)

© Instituto Nacional de Salud, 2012

Cápac Yupanqui 1400, Jesús María, Lima, Perú

Teléfono: (511) 617-6200

Correo electrónico: [postmaster@ins.gob.pe](mailto:postmaster@ins.gob.pe)

Página web: [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe)

Norma Técnica aprobada con Resolución Jefatural N.º 383-2011-J-OPE/INS

Diseño y diagramación: AGL Gráfica Color SRL

Corrección de estilo: AGL Gráfica Color SRL

Impreso en: AGL Gráfica Color SRL • R.U.C. 20385898909

Psje. Monte Eucalipto 140 - Surco • Telf. 2751380 - 999709514

La versión electrónica de este documento se encuentra disponible en forma gratuita en [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe)

Se autoriza su reproducción total o parcial, siempre y cuando se cite la fuente.

Este manual ha sido desarrollado en el marco del Proyecto "Haciendo la diferencia: consolidando una respuesta amplia e integral contra la Tuberculosis en el Perú" Octava Ronda Fondo Mundial - Componente Tuberculosis bajo los términos de donación (Acuerdo de Subvención PER-809-G07-T suscrito entre el Ministerio de Salud y el Fondo Mundial - Receptor Principal PARSALUD II) Primera Fase y dentro de la consultoría elaborada por Consultores en Salud Integral CONSALINT SAC.

## ÍNDICE

<b>1.</b>	Glosario	8
<b>2.</b>	Introducción	13
<b>3.</b>	Justificación	14
<b>4.</b>	Finalidad	14
<b>5.</b>	Objetivos	14
<b>6.</b>	Base legal	14
<b>7.</b>	Ámbito de aplicación	15
<b>8.</b>	Contenido	15
	8.1 Marco conceptual	15
	8.2 Consideraciones	16
	8.3 Organización de la red de laboratorios	17
	8.4 Control externo de la calidad de la baciloscopia	18
<b>9.</b>	Metodología	21
	9.1 Evaluación de paneles de láminas de baciloscopías (centro a la periferia)	21
	9.2 Relectura “doble ciego” de láminas de baciloscopías (periferia a centro)	30
<b>10.</b>	Bibliografía	61
<b>11.</b>	Anexos	62

SECTOR SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



N° 383 -2011-J-POE/INS

RESOLUCIÓN JEFATURAL

Lima, 21 de diciembre de 2011

VISTO:

El Informe N° 197-2011-DG-CNSP/INS de fecha 21 de diciembre de 2011 del Centro Nacional de Salud Pública, que alcanza los Manuales de Control Externo de la Calidad de los Procedimientos; y

CONSIDERANDO:



Que, mediante Decreto Supremo N° 001-2003-SA, del 09 de enero del 2003, se aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Salud, el cual señala entre sus objetivos funcionales, fortalecer la capacidad de diagnóstico en el ámbito nacional para la prevención y control de riesgos y daños asociados a las enfermedades transmisibles y no transmisibles, así como fortalecer el sistema de control de calidad de los alimentos, productos farmacéuticos y afines, como organismo de referencia nacional;



Que, de acuerdo a lo establecido en el artículo 36° del mismo texto normativo, el Centro Nacional de Salud Pública, es el órgano de línea del Instituto Nacional de Salud, encargado de normar, desarrollar, evaluar y difundir de manera integral la investigación en salud pública y las tecnologías apropiadas, para la prevención y el control de las enfermedades transmisibles y no transmisibles, aportando criterios técnicos para la formulación de políticas que orienten la atención de salud en el área de su competencia;



Que, la Baciloscopia es la herramienta primaria para el diagnóstico de la Tuberculosis Pulmonar Activa, y constituye la base para la búsqueda de casos infecciosos y es útil para evaluar la respuesta al tratamiento y las tasas de curación. Del mismo modo, los errores de diagnóstico por microscopía, pueden conducir a la no detección de pacientes con Tuberculosis, quienes continuarán la cadena de transmisión a la comunidad, o el tratamiento inútil de personas no tuberculosas. Los errores en la lectura de los frotis de control pueden dar lugar a la prolongación del tratamiento o a un retratamiento o a su interrupción prematura;

Que, el Control de Calidad de la Baciloscopia es un proceso de supervisión sistemática y eficaz de los resultados del trabajo de los laboratorios y asegura que la información generada sea exacta, confiable y reproducible, además que representa un elemento indispensable para el funcionamiento eficaz del Programa Nacional de Control de la Tuberculosis;

Que, es finalidad del presente Manual, estandarizar y dar a conocer en forma clara y definida los procesos sobre control de calidad de baciloscopias de las muestras de esputo en la red de Laboratorios a nivel nacional, lo cual contribuirá a garantizar la confiabilidad diagnóstica de la Tuberculosis;

PROCEDIMIENTOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD EXTERNO DE BACILOSCOPÍA  
PARA EL DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS

Que, mediante documento del Visto, el Centro Nacional de Salud Pública alcanza entre otros el "Manual de Procedimientos para el Control de Calidad Externo de Baciloscopia para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis - V.01", para la aprobación de esta Jefatura institucional;



Estando a lo propuesto por el Centro Nacional de Salud Pública, con el visto bueno de la Sub Jefatura, de la Oficina General de Asesoría Técnica y de la Oficina General de Asesoría Jurídica, y;

En uso de las atribuciones establecidas en el literal h) del artículo 12° del Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Salud aprobado por Decreto Supremo N° 001-2003-SA y en concordancia con lo dispuesto en la Directiva N° 001-INS/OGAT-V.02 "Directiva para la Elaboración, Revisión, Aprobación, Difusión, Actualización y Control de los Documentos Normativos del Instituto Nacional de Salud" aprobada mediante Resolución Jefatural N° 310-2010-J-OPE/INS;



**SE RESUELVE:**

**Artículo 1°.-** Aprobar el "Manual de Procedimientos para el Control de Calidad Externo de Baciloscopia para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis - V.01".

**Artículo 2°.-** Encargar a los Directores Generales, dentro del ámbito de su competencia, comunicar y difundir entre el personal a su cargo la presente Resolución.



**Artículo 3°.-** Encargar a la Oficina Ejecutiva de Organización, la difusión de la presente Resolución en el Portal de Normatividad Virtual.

Regístrese y comuníquese.



  
Percy Luis Minaya León  
Jefe  
Instituto Nacional de Salud

## 1. GLOSARIO

- **Aseguramiento o garantía de la calidad (AC):** sistema concebido para mejorar la confiabilidad y la eficacia de los servicios de laboratorio de manera continua. Comprende el control interno de la calidad (CI) y la evaluación externa de la calidad (EEC).
- **BAAR:** bacilos ácido alcohol resistentes.
- **Control de calidad (CC):** también llamado control interno de la calidad. Comprende el control de todos los procesos a través de los cuales el laboratorio realiza la microscopia, esto incluye la verificación de los instrumentos y de los nuevos lotes de colorantes.
- **Coloración de Ziehl Neelsen (ZN):** método de coloración con fucsina de Ziehl calentada hasta la eliminación de vapores, decoloración con alcohol ácido y luego contraste con azul de metileno. Los BAAR aparecen rojos en un fondo azul.
- **Error de cuantificación (EC):** consiste en una diferencia entre el supervisado y el supervisor de más de un grado en la lectura de un frotis positivo. Este es un error menor que, generalmente, no tiene ningún impacto en la toma de decisiones sobre el paciente.
- **Error mayor:** este tipo de error es considerado el más crítico por el alto impacto que tiene sobre la toma de decisiones en el paciente, puede dar lugar a un diagnóstico erróneo y a un tratamiento incorrecto. Estos errores pueden indicar graves deficiencias técnicas e incluyen los elevados falsos positivos (EFP) y los elevados falsos negativos (EFN).



- **Error menor:** en la práctica clínica, estos errores pueden tener un impacto menor sobre la decisión a tomar respecto al paciente. Sin embargo, para el propósito de evaluar la calidad de los resultados del laboratorio, este tipo de error es considerado menos grave debido a las limitaciones inherentes a la detección sistemática de unos pocos BAAR que pueden estar distribuidos desigualmente a lo largo del frotis. La frecuencia de errores menores puede indicar eventuales deficiencias técnicas.
- **Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de Tuberculosis (ESN-PCT):** es el responsable del control de la tuberculosis (prevención, diagnóstico y tratamiento).
- **Evaluación externa de la calidad (EEC):** consiste en la evaluación de la preparación de los extendidos, la coloración, el examen microscópico, registro e informe de los resultados. Para dar a conocer el desempeño del laboratorio supervisado.
- **Falso positivo elevado (FPE):** un frotis negativo mal interpretado como positivo 1+ a 3+. Se trata de un error mayor.
- **Falso negativo elevado (FNE):** un frotis positivo 1+ a 3+ que es malinterpretado como negativo. Se trata de un error mayor.
- **Falso positivo bajo (FPB):** se trata de un frotis negativo malinterpretado como un débil positivo (1 - 9 BAAR/100 campos). Este tipo de error menor ocurre ocasionalmente aun en laboratorios de alta calidad y con tasa de errores.
- **Falso negativo bajo (FNB):** se trata de un frotis positivo bajo (1 - 9 BAAR/100 campos) mal interpretado como negativo. Este tipo de error

menor ocurre ocasionalmente aun en laboratorios de alta calidad y con tasa de errores.

- **INS:** Instituto Nacional de Salud.
- **Laboratorio intermedio (LI):** son los laboratorios que se encuentran ubicados en los hospitales nacionales de los establecimientos de salud, ubicados en zonas geográficas accesibles y que cuentan con buena infraestructura y personal capacitado.
- **Laboratorio local:** son los laboratorios ubicados en los centros de salud, hospital distrital o provincial que cuentan con ambiente físico, microscopio y personal capacitado para la realización de baciloscopías.
- **Laboratorio de Referencia Nacional (LRN):** el Instituto Nacional de Salud (INS), en su componente de micobacterias, es el Laboratorio de Referencia Nacional (LRNM), es de mayor complejidad técnica y cuenta con infraestructura física, equipamiento, materiales, reactivos y recursos humanos calificados. Conduce la red de laboratorios de tuberculosis en el ámbito nacional.
- **Laboratorio de Referencia Regional (LRR):** es un Laboratorio de Salud Pública de Referencia Regional de mayor complejidad técnica de la región, que investiga, coordina y difunde las normas y metodologías orientadas al control, vigilancia y prevención de la tuberculosis en su jurisdicción. Su funcionamiento es responsabilidad de la dirección de salud o dirección regional de salud, con el asesoramiento del INS y en coordinación con la ESN-PCT.
- **Laboratorio supervisor:** operacionalmente, para fines de CC de baciloscopías, se considera laboratorio supervisor a aquel que participa en

la coordinación, supervisión, asesoría técnica, capacitación, información y evaluación a los laboratorios locales de su jurisdicción como responsabilidad asignada.

- **Laboratorio supervisado:** es el laboratorio evaluado por un laboratorio supervisor de acuerdo con los niveles de complejidad.
- **Mejoramiento de la calidad (MC):** procedimiento por el cual los diferentes componentes de los servicios de baciloscopia son analizados, con el objetivo de buscar las formas para mejorar las deficiencias encontradas. La obtención y análisis de datos como así también la identificación de soluciones a los problemas son los componentes claves de este procedimiento. Comprende la evaluación continua, la identificación de los errores seguido de la aplicación de medidas correctivas.
- **MINSA :** Ministerio de Salud
- **MTB:** *Mycobacterium tuberculosis*.
- **Muestreo estadísticamente válido:** es un método concebido para obtener una muestra aleatoria representativa de todos los frotis, que permite llegar a conclusiones cuantitativamente correctas o estadísticamente validas.
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- **Positivo bajo (paucibacilar):** término utilizado en este documento para describir un frotis con un contenido bacilar de 1-9 BAAR/100 campos, el cual es el estándar de cuantificación de la OMS/UICTER. Los resultados son informados al médico clínico como el número exacto de

BAAR observados. Es la responsabilidad del médico clínico y de la ESN-PCT decidir si representa un caso o no. Anteriormente era designado como frotis pobre o débil.

- **Pruebas de los lotes control externo a través de lotes de frotis:** consiste en el envío de frotis desde el laboratorio supervisor hacia los laboratorios supervisados, para evaluar la capacidad en términos de lectura, interpretación e informe de los resultados.
- **Relectura:** consiste en el envío de frotis desde el laboratorio supervisado (Periférico o local) al laboratorio supervisor (laboratorio intermedio o nacional) con el fin de ser releídos. Las presentes directrices recomiendan que la relectura se realice a ciegas, asegurando que el controlador no sepa los resultados del laboratorio periférico.
- **Retroinformación:** procedimiento por el cual se comunican los resultados del EEC al laboratorio original, incluyendo las sugerencias de posibles causas de errores y las medidas a tomar para corregirlos.
- **Tasa de frotis positivos (TFP):** proporción de frotis positivos entre todos los examinados (diagnóstico y control) en un laboratorio de microscopía durante un período definido.
- **TB MDR:** tuberculosis multidrogorresistente.
- **UICTER:** Unión Internacional contra la TB y Enfermedades Respiratorias.

## 2. INTRODUCCIÓN

---

El diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis (TB) depende del examen directo del esputo en búsqueda de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) o del aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) en el cultivo.

En la mayor parte del mundo, la baciloscopía es la herramienta primaria para el diagnóstico de la TB pulmonar activa, constituye la piedra angular en la búsqueda de los casos infecciosos y es útil para evaluar la respuesta al tratamiento y las tasas de curación.

La detección y diagnóstico de casos, el control de calidad (CC) periódico de la baciloscopía en la red de laboratorios, la supervisión y entrenamiento continuo del personal de laboratorio, son aspectos esenciales dentro de la estrategia *Directly Observed Treatment Short Course* (tratamiento acortado estrictamente supervisado).

El CC de la baciloscopía es un proceso de supervisión sistemático y eficaz de los resultados del trabajo de los laboratorios y asegura que la información generada sea exacta, confiable y reproducible; además, representa un elemento indispensable para el funcionamiento eficaz del Programa Nacional de Control de la TB (ESN-PCT) e incluye el proceso de recolección del esputo, preparación de los frotis, tinción, examen microscópico, registro e información de los resultados.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Unión Internacional contra la TB y Enfermedades Respiratorias (UICTER), basados en estudios recientes sobre la calidad del diagnóstico de la baciloscopía, publicó en el 2002 el manual *External Quality Assessment for AFB Smears Microscopy*, donde recomiendan dos nuevas modalidades para el CC: el rechequeo de láminas a ciegas (RLC) con previa recolección de las láminas antes de la relectura y el panel de láminas.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El control de calidad de la baciloscopia es un procedimiento que sirve para evaluar si la información producida por el laboratorio es precisa, reproducible y oportuna. Instaure un sistema de alarmas que permite prevenir, describir y corregir errores en los diferentes niveles de la red de laboratorios.

### 4. FINALIDAD

El presente manual busca estandarizar y dar a conocer en forma clara y definida los procesos sobre control de calidad de baciloscopías de las muestras de esputo en la red de laboratorios de tuberculosis a nivel nacional.

### 5. OBJETIVOS

- Contribuir con el aseguramiento de la calidad del diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis
- Mejorar la calidad de las baciloscopías realizadas en los diferentes laboratorios de la red nacional.

### 6. BASE LEGAL

- Constitución Política del Perú.
- Ley N.º 26842 - Ley General de Salud.
- Norma Técnica de control de la Tuberculosis RM N.º 383-2006/MINSA.
- Decreto Supremo N.º 001-2003-SA que aprueba el Reglamento de organización y funciones del Instituto Nacional de Salud.

- Ley N.º 27657 Ley del Ministerio de Salud.
- Decreto Supremo N.º 013-2002-SA que aprueba el Reglamento de Ley N.º 27657 Ley del Ministerio de Salud.
- Resolución Ministerial 826-2005/MINSA Normas para la elaboración de documentos

## 7. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente norma técnica es de aplicación en todos los laboratorios de tuberculosis de acuerdo con los niveles de complejidad de la red de laboratorios.

## 8. CONTENIDO

### 8.1 Marco conceptual

La implementación de una amplia red de laboratorios eficientes dentro del contexto del sistema de salud y accesible a la población es una prioridad para la Estrategia Sanitaria Nacional para el Control de la Tuberculosis (ESN-PCT). Si el diagnóstico de laboratorio no es confiable, las otras actividades se verán también afectadas. Los errores de diagnóstico por microscopía pueden conducir a la no detección de pacientes con TB, quienes continuarán la cadena de transmisión en la comunidad o el tratamiento inútil de personas no tuberculosas. Los errores en la lectura de frotis de control pueden dar lugar a la prolongación del tratamiento o a un retratamiento o a su interrupción prematura. Es por ello que la garantía o aseguramiento de la calidad de los laboratorios que realizan baciloscopías a partir de esputos, es esencial.

La confiabilidad y la calidad de la microscopía dependen de la sostenibilidad de las actividades y la capacitación del personal de la red de laboratorios. Este manual está orientado para dar a conocer las directrices y métodos para evaluar la calidad y confiabilidad de las baciloscopías que realizan los laboratorios. Aunque estos métodos no están concebidos para verificar el diagnóstico de cada paciente, el procedimiento de identificar y corregir los problemas observados en los laboratorios servirá para asegurar la calidad de los servicios de diagnóstico.

## 8.2 Consideraciones

El laboratorio Nacional de Referencia del INS es el responsable de implementar un programa de control de calidad de la baciloscopía que se realiza en la red de laboratorios de tuberculosis a nivel nacional.

Los laboratorios de referencia regional velarán por el cumplimiento de la presente norma técnica en la red de laboratorios que se encuentren dentro de su jurisdicción.

A nivel local, los responsables de los laboratorios contribuirán en el cumplimiento de la presente norma técnica, enviando láminas a sus laboratorios supervisores correspondientes.

El control de calidad de la baciloscopía contribuirá a garantizar la confiabilidad diagnóstica de la tuberculosis.



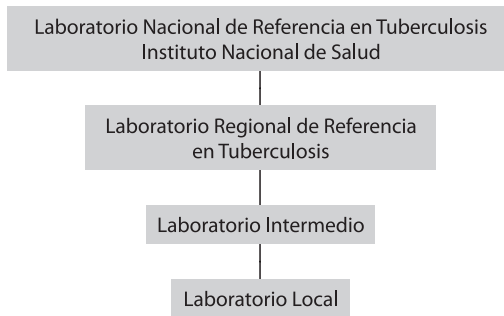
### 8.3 Organización de la red de laboratorios

La red de laboratorios se encuentra conformada de la siguiente manera:

---

**Esquema de la organización de la red de laboratorios de tuberculosis para el control de calidad de baciloscopías en la red de servicios del Ministerio de Salud del Perú**

---



- **Laboratorio local (LL):** son los laboratorios ubicados en los centros de salud, hospital distrital o provincial que cuentan con ambiente físico, microscopio y personal capacitado para la realización de baciloscopías.
- **Laboratorios intermedios (LI):** son los laboratorios que se encuentran ubicados en los hospitales nacionales de los establecimientos de salud, ubicados en zonas geográficas accesibles que cuentan con buena infraestructura y personal capacitado. Estos laboratorios están capacitados para realizar el control de calidad de la baciloscopía.

- **Laboratorio de referencia regional (LRR):** es un laboratorio de salud pública de mayor complejidad técnica de la región, que investiga, coordina y difunde las normas y metodologías orientadas al control, vigilancia y prevención de la tuberculosis en su jurisdicción. Su funcionamiento es responsabilidad de la dirección de salud o dirección regional de salud, con el asesoramiento del INS y en coordinación con la ESN-PCT. Estos laboratorios son los responsables de organizar y realizar el control de calidad de la baciloscopía de la región.
- **Laboratorio de referencia nacional (LRN):** es el Laboratorio de mayor complejidad técnica y cuenta con infraestructura física, equipamiento, materiales, reactivos y recursos humanos calificados. Conduce la red de laboratorios de tuberculosis en el ámbito nacional.

#### 8.4 Control externo de la calidad de la baciloscopía

Es un proceso sistemático, para comparar retrospectiva y objetivamente los resultados de distintos laboratorios mediante programas organizados por un laboratorio de referencia. Se denomina también prueba de competencia. Hay tres métodos de controles de calidad que deben combinarse para evaluar el desempeño del laboratorio

1. **Evaluación directa:** se realizan a través de visitas técnicas como parte de un proceso permanente de garantía de calidad externa, según los recursos disponibles y la capacidad de desempeño del laboratorio que se visita. El laboratorio supervisor debe realizar una visita semestral o anual al laboratorio supervisado por personal experimentado o formar equipos de supervisión con personal del laboratorio intermedio y el supervisor regional con

listas de comprobación y de instrucciones para la recolección de una muestra de baciloscopías seleccionada al azar para el control de calidad externo.

- 2. Evaluación de paneles de láminas de baciloscopías (centro a la periferia):** conjunto de láminas teñidas en el laboratorio de referencia nacional o regional que se envían a los laboratorios supervisados, para lectura y notificación de resultados. El examen de un panel de láminas de baciloscopías es un método de evaluación externa de la calidad que puede usarse para determinar si el laboratorista puede realizar adecuadamente las lecturas de las baciloscopías. Este método comprueba el desempeño del personal que realiza la lectura, no del laboratorio en su conjunto.

El control con paneles de frotis es útil para:

- Proveer datos preliminares de las capacidades de los laboratorios periféricos, previamente al programa de relectura.
- Detectar rápidamente los problemas asociados con la baja calidad de lectura de los resultados.
- Evaluar la capacitación de los técnicos de laboratorio.
- Evaluar la calidad de los resultados cuando no hay recursos disponibles para implementar la relectura.

Criterios que deben tenerse en cuenta para la implementación del control con paneles de frotis:

- Correcta preparación de los paneles de frotis.

- Número de frotis a incluir en el panel de frotis.
- Tipos de frotis a incluir (coloreados, positivos débiles, frotis espesos o muy finos).
- Condiciones de transporte de los frotis a los laboratorios (correo, servicio de transporte).
- Tiempo acordado a los técnicos de los laboratorios para la lectura e informe de los resultados.

Criterios de evaluación para una calidad de los resultados aceptable:

- Entrega de los informes de los resultados a los laboratorios evaluados y la implementación de las eventuales acciones correctivas.
- Mecanismos para resolver los resultados discrepantes.

### **3. Relectura “doble ciego” de una muestra de láminas de baciloscopías (periferia al centro)**

Este método consiste en volver a leer una cantidad de láminas para evaluar si el laboratorio supervisado tiene un nivel aceptable de desempeño. La muestra debe haber sido seleccionada al azar y la relectura debe hacerse a “doble ciego”, es decir el evaluador desconoce los resultados obtenidos por el laboratorio evaluado.

En caso de resultados discrepantes, se volverá a releer la lámina por el mismo evaluador, si persiste la discrepancia, se optará por un segundo evaluador.

## 9 METODOLOGÍA

### 9.1 Evaluación de paneles de láminas de baciloscopías (centro a la periferia)

#### A. Preparación de los paneles de frotis

El laboratorio de referencia debe utilizar esputos positivos y negativos, para producir una gran colección de frotis positivo con una cantidad predeterminada y uniforme de BAAR por frotis (variable de + a +++ de bacilos), como también frotis negativos.

Este método permite que todos los laboratorios reciban un idéntico lote de frotis, lo cual minimiza la variación de los resultados debida a la variabilidad de los frotis. La utilización de frotis bien preparados y uniformes demuestra la calidad de resultados de los laboratorios evaluados.

El procedimiento para preparar los frotis de los lotes se observa en el Anexo 1, el cual ha sido validado con NaOH como reactivo en varios países. Si se usan frotis confeccionados en el laboratorio, para el control por lote de frotis, se deben tomar las medidas para validar los resultados de estos frotis antes de enviarlos a los laboratorios. Esto asegura la confiabilidad de los resultados del control por lotes de frotis y sirve para documentar que los

errores de lectura no se deben a una mala preparación de los lotes de frotis.

La producción de series individuales de frotis con idéntico número de BAAR, especialmente los positivos débiles, requiere práctica para obtener cantidades de bacilos semejantes entre cada frotis. Cada lote de paneles de frotis debe ser validado seleccionando una muestra de más de seis frotis de cada lote para ser coloreados y leídos por varios técnicos y, así, documentar la riqueza bacilar de los frotis (Formulario 1).

Para aumentar la eficiencia de la confección de los paneles de frotis, los laboratorios de referencia deberían desarrollar sus capacidades para producir lotes de 50-100 frotis a almacenar para su futuro uso en la preparación de los paneles.

Los frotis de los paneles serán coloreados en el laboratorio de referencia antes de ser enviados a los centros evaluados. Esto representa un esfuerzo adicional para el laboratorio central que prepara los paneles, pero reduce el volumen de trabajo de los técnicos de los laboratorios evaluados. Los frotis coloreados sirven para evaluar la capacidad de lectura del técnico.

## **B. Número y tipo de frotis**

El número de frotis a incluir en el lote debe ser suficiente para hacer la prueba válida como indicador de la evaluación de la calidad, sin recargar el volumen de trabajo de los técnicos de los laboratorios evaluados. Un número limitado de frotis, por ejemplo diez, que representa la mitad del número máximo de frotis que

un técnico puede examinar por día sin por ello perder la calidad de la lectura, es un número aceptable.

Los paneles deben incluir frotis con diferentes grados de resultados positivos para poder evaluar la capacidad de los técnicos de analizar correctamente las diferentes graduaciones de los frotis positivos. Tiene poco valor el hecho de incluir varios frotis 3+ ya que no presentan gran dificultad para la lectura. Contrariamente, los frotis con moderada cantidad de bacilos (2+), o escasa cantidad (1+) ayudan al evaluador a apreciar la capacidad del técnico para realizar la lectura de ese tipo de frotis. Encontrar y contar bacilos en un frotis pobre en cantidad, requiere tiempo y experticia del técnico en su lectura.

Es importante enviar la misma serie de lotes a todos los laboratorios para que la calidad global de todos ellos pueda ser evaluada. Usualmente, un ejercicio de control por lotes de frotis se realiza enviando lotes con idéntica constitución de frotis (de negativos y positivos) a varios laboratorios al mismo tiempo. De esta manera, los técnicos no esperan la misma constitución de frotis, ya que debe haber variación en los paneles de frotis (número de positivos y negativos) enviados durante los diferentes controles realizados. En el Formulario 2 se realizará el registro para el seguimiento de los diferentes paneles de frotis.

**Tabla 1. Ejemplos de conformación de paneles de frotis**

1 frotis (3+)	1 frotis (3+)	1 frotis (2-3+)
1 frotis (2+)	1 frotis(2+)	2 frotis (1+)
1 frotis (1+)	2 frotis (1+)	4 frotis 1-9/100 campos
2 frotis 1-9/100 campos	3 frotis 1-9/100 campos	3 frotis negativos
5 frotis negativos	3 frotis negativos	

**C. Sistema de envío de frotis**

- 1. El correo postal:** requiere la utilización de cajas apropiadas para los frotis, como cajas de plástico o de cartón resistente, para reducir la posibilidad de rupturas o daños durante el transporte.
- 2. Entrega de los frotis durante las visitas de supervisión:** este método se realiza durante las visitas de supervisión.

**D. Formularios para el informe de los resultados de los laboratorios evaluados**

El Formulario 3 debe ser utilizado individualmente por cada técnico de laboratorio, independientemente y no en grupo. Es importante indicar al personal de laboratorio que los resultados **NO SE COMPARTEN**, ya que se trata de un método para evaluar la capacidad individual de los técnicos.



### **E. Tiempo acordado para la realización de la prueba y el informe de los resultados**

Es importante que los técnicos tengan un tiempo suficiente para leer los frotis sin alterar significativamente el trabajo de rutina. Los técnicos deberán utilizar el mismo tiempo para la lectura que el usado en rutina.

Puede darse el caso que pasen más tiempo de lo necesario leyendo los frotis del lote ya que saben que están siendo evaluados, por lo tanto, cuando se pueda, el supervisor deberá controlar el tiempo utilizado para leer cada frotis. Esto solo es realizable cuando el examen de los frotis del lote se hace bajo el control del supervisor.

Un plazo razonable aceptado puede variar entre una semana y un mes, en función del sistema de transporte, del personal y del volumen de trabajo.

### **F. Frecuencia del control con paneles de frotis**

Se recomienda que el control con paneles de frotis sea no menos de una vez por año. Siempre y cuando este sea complementado con el EEC mediante lotes de doble ciego.

### **G. Evaluación e interpretación de los resultados**

Es útil determinar los resultados globales de todos los laboratorios previamente a la determinación del puntaje final. Si la mayoría de laboratorios informa mal el resultado de un mismo

frotis, esto puede indicar un problema durante la preparación de este tipo de frotis en el laboratorio central y debería por lo tanto ser excluido de la evaluación. Se utilizará el Formulario 4 para la evaluación global y el informe de los resultados.

**Tabla 2. Clasificación de los errores**

Resultados del técnico de laboratorio periférico	Resultados originales del controlador				
	Negativo	1-9 BAAR/100 campos	1+	2+	3+
Negativo	Correcto	FNB	FNE	FNE	FNE
1-9 BAAR/100 campos	FPB	Correcto	Correcto	EC	EC
1+	FPE	Correcto	Correcto	Correcto	EC
2+	FPE	EC	Correcto	Correcto	Correcto
3+	FPE	EC	EC	Correcto	Correcto

Correcto:	Ausencia de errores	
EC	Error de cuantificación	Error menor
FNB	Falso negativo bajo	Error menor
FPB	Falso positivo bajo	Error menor
FNE	Falso negativo elevado	Error mayor
FPE	Falso positivo elevado	Error mayor

## H. Sistema de puntaje

La evaluación de la lectura se realizará de acuerdo al siguiente esquema:

### Lectura

- a. **95-100%: Bueno**
- b. **90-94%: Regular**
- c. **< 90%: Deficiente**

El porcentaje máximo tolerante de discordancia de la lectura del panel de diez láminas es de una lámina, cuando sea mayor de una lámina, deberá realizarse una supervisión para detectar los casos de discordancia y corregir el error, dando sugerencias o pautas.

Serie de diez frotis, cada frotis vale diez puntos. Puntaje total posible=100.

- a. Cada positivo informado negativo vale cero.
- b. Cada negativo informado positivo vale cero.
- c. Error de cuantificación vale cinco.  
Puntaje de aprobación = 90-100.

La evaluación de la lectura de láminas en cuanto a la cuantificación de la carga bacteriana, será de la siguiente manera:

1. Serie de diez frotis, cada frotis vale diez puntos. Puntaje total posible=100.

- a. Cada frotis correcto vale diez puntos.
  - b. Cada frotis incorrecto vale cero.
  - c. Puntaje de aprobación = 90-100.
2. Serie de diez frotis, cada frotis vale diez puntos. Puntaje total posible=100.
    - a. FPE y FNE valen cero.
    - b. FPB, FNB y EC valen cinco.
    - c. Puntaje de aprobación = 90-100.
  3. Serie de diez frotis, cada frotis vale diez puntos. Puntaje total posible=100.
    - a. FPE y FPB valen cero.
    - b. FNE vale cero.
    - c. FNB y EC valen cinco.
    - d. Puntaje de aprobación = 90-100.

## I. Informe de evaluación

Los informes deberán incluir los resultados individuales, así como la calidad general de todos los laboratorios evaluados. Se debe enviar los informes a los laboratorios de acuerdo al nivel de complejidad y, además, se deberán remitir al Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias y otro a la ESN-PCT.

Los informes deberán comprender los criterios de aceptación de la calidad, las posibles causas de error y las sugerencias o necesidades de una medida correctiva. Los formularios para la retroalimentación son dados en los Formularios 3 y 4.

Una calidad deficiente debe conducir a la investigación e identificación de la causa. La investigación deberá incluir la evaluación global de la calidad de todos los laboratorios de referencia. Para determinar la calidad individual de los laboratorios, la investigación deberá incluir una evaluación en el lugar de trabajo para identificar la causa del problema.

Las visitas técnicas de supervisión ofrecen la mejor oportunidad de revisar los resultados del control por lote de frotis con los técnicos en los laboratorios periféricos; de identificar las causas potenciales de error y el implementar las medidas correctivas. Por esta razón las visitas de supervisión por personal experimentado de un laboratorio intermediario o nacional, son recomendadas al menos anualmente y, más frecuentes, si son identificados problemas graves.

#### **J. Resolución de las divergencias**

La implementación a nivel nacional de un sistema de control externo de la calidad distribuyendo series de frotis, presenta frecuentemente dificultades más o menos simples de superar:

- Dificultades técnicas durante la preparación de los paneles de frotis.
- Error en la lectura inicial de un frotis en el laboratorio de referencia.
- Informe incorrecto de los resultados esperados.

- Decoloración de los frotis durante el transporte a los centro periféricos

Por esta razón, todo sistema de control con paneles de frotis debe incluir un mecanismo o procedimiento para resolver los resultados divergentes. Esto puede requerir el envío de vuelta de los frotis al laboratorio de referencia para la relectura o también el envío de un técnico del laboratorio de referencia al centro periférico para una evaluación precisa en el lugar de trabajo y relectura de los frotis de la serie enviada con cada técnico.

## **9.2 Relectura “doble ciego” de láminas de baciloscopías (periferia a centro)**

Es un procedimiento que consiste en la relectura de una muestra de frotis del laboratorio a controlar, para evaluar su nivel de calidad.

Los elementos esenciales de un sistema de relectura preciso y práctico señalados son los siguientes:

- La muestra de frotis del laboratorio debe contener un número suficiente de frotis seleccionados de manera aleatoria como para ser representativa de la calidad.
- El laboratorio supervisor debe ocultar los resultados iniciales de la baciloscopía al técnico que realizará la lectura de los frotis, para evitar un sesgo en los resultados.
- Los errores menores, que representan falsas interpretaciones positivas y negativas de 1-9 BAAR/100 campos, son incluidos con los

errores mayores para el cálculo del tamaño de la muestra lo más pequeña posible. Una muestra más pequeña facilita la implementación y la continuidad de los programas de relectura.

- Los resultados divergentes son resueltos por un segundo controlador.
- Debe existir un sistema que proporcione una continua retroinformación y mejoramiento a los laboratorios supervisados.

El apoyo fuerte y continuo de los laboratorios referenciales hace necesario implementar programas de relectura funcionales y regulares. Este método de la EEC proporciona aseguramiento fiable de la calidad de los laboratorios de la red del país. Todos los laboratorios deberán incluir un programa de relectura a ciegas.

El método de la relectura a ciegas recomienda lo siguiente:

- El muestreo realizado con 10% de los negativos y el 100% de los positivos no debe ser más recomendado.
- Los errores mayores y menores son incluidos para obtener el tamaño de muestra más pequeño posible.
- Los frotis positivos y negativos no son más clasificados y conservados separadamente.
- La relectura se realiza siempre a ciegas, es decir que el técnico que relea no conoce los resultados iniciales de los frotis.

- Las divergencias deben siempre ser resueltas por un segundo controlador.
- La calidad del laboratorio es evaluada en función al número y al tipo de errores que superan el umbral límite predeterminado y no calculando el porcentaje de errores.

Los programas de relectura están destinados a evaluar la calidad global del laboratorio y, de ninguna manera, a confirmar un diagnóstico individual de los pacientes. Por lo tanto, la relectura de todos los frotis positivos deberá ser abandonada y reemplazada por un método de muestreo representativo de todos los frotis, positivos y negativos.

Si un laboratorio informa un número inaceptable de resultados falsos positivos, que puede ser tan solo uno, esto es probablemente una indicación de un problema sistemático que puede ser detectado revisando una muestra y no todos los frotis positivos. El método de muestreo propuesto está concebido para incluir el número más pequeño de frotis con el objetivo de determinar si un laboratorio se acerca a la calidad esperada.

Este método permite al laboratorio supervisor releer una muestra mínima y, si un laboratorio no tiene errores, existe una cierta garantía que el laboratorio presenta la calidad deseada. Como en todos los programas de relectura, si son detectados uno o más errores, el laboratorio supervisor debe decidir subjetivamente si esos errores son aleatorios o representan un problema potencial de la calidad del trabajo que requiere por lo tanto una investigación y si es necesario intervención es para mejorar la calidad. Es posible que luego de una



investigación en un laboratorio en particular, ningún problema serio sea detectado.

Es necesario disponer de una red de laboratorios funcionando adecuadamente. Debe haber un número suficiente de personal en los laboratorios intermedios, regionales y central para realizar la relectura. Para determinar los recursos necesarios el programa nacional debe establecer un sistema para la realización de todas las etapas necesarias al programa de relectura:

- Determinar un tamaño de muestra válido.
- Conservar apropiadamente los frotis hasta su colecta.
- Colectar una muestra aleatoria y representativa de los laboratorios periféricos.
- Releer los frotis asegurando la condición de ciego.
- Resolver las divergencias entre el resultado inicial y el del evaluador.
- Implementar los errores y determinar los requerimientos para la acción correctiva.
- Informar los resultados de la relectura al laboratorio periférico y al laboratorio de referencia regional y este, a su vez, al laboratorio de referencia nacional.

- Investigar las causas potenciales de los errores durante la supervisión del laboratorio.
- Proporcionar una formación u otras medidas correctivas.

#### **A. Tamaño de la muestra**

Idealmente, los frotis colectados deberían constituir una muestra aleatoria y representativa basada en el volumen de trabajo en el laboratorio a evaluar y los parámetros de la calidad deseada de los resultados definidos por el país. Sin embargo, para que la relectura sea realizable y fiable, el volumen de trabajo de los evaluadores debe ser también considerado.

El tamaño de la muestra es obtenida por métodos estadísticos. En este sistema el tamaño de la muestra depende de la tasa de frotis positivos, del número total de frotis negativos examinados por año y del nivel de calidad de los resultados deseados (sensibilidad) comparada con los evaluadores. Esto permite detectar los laboratorios con número de errores que excede el nivel aceptable establecido previamente por el LRN. La explicación detallada de los métodos estadísticos y las tablas necesarias son dadas en el Anexo 2 como información suplementaria para los programas que desean determinar los parámetros de muestreo.

**Tasa de frotis positivos (TFP):** es la proporción de frotis positivos entre todos los frotis (diagnóstico y control de tratamiento) en el laboratorio de donde se colectará la muestra. Este dato se estima utilizando los registros del laboratorio del año precedente o de los cuatro trimestres anteriores. Los tamaños de las

muestras pueden ser determinados usando el promedio de la tasa de frotis positivos del laboratorio, región o país.

$$\text{TFP} = \frac{\text{\#Frotis positivos por año}}{\text{Número de frotis anual}}$$

**Total de frotis negativos (TFN):** número de frotis anual menos el número de frotis positivos por año.

**Sensibilidad:** representa el nivel de capacidad para detectar los frotis positivos, comparado con los evaluadores. La sensibilidad aceptable debe ser determinada por el LRN. La sensibilidad, como está definida aquí, es la detección de todos los positivos, incluyendo los positivos débiles (1-9 BAAR/100 campos). Por lo tanto, se recomienda una sensibilidad general 75-85%. Los programas más recientes pueden comenzar fijando una sensibilidad 75-80% ya que así se reduce el tamaño de la muestra de manera significativa, lo que contribuirá a hacer más realizable la implementación del programa de relectura.

Aunque una sensibilidad de 75-80% puede ser considerada muy pequeña por algunos, es importante señalar que aumentando la sensibilidad deseada, el tamaño de la muestra aumentará significativamente haciendo más difícil la implementación y el mantenimiento de la relectura.

Aun con una sensibilidad de 80%, serán detectados errores en muchos laboratorios. Esto no significa automáticamente que el laboratorio no tiene el nivel esperado, y los errores deberán ser evaluados basándose en los tipos y sus frecuencias. Por otro lado,

algunos laboratorios pueden encontrar, una vez implementada la relectura, que tienen una sensibilidad mayor de 80%. La Tabla 3 está basada en una sensibilidad de 80%.

El número de frotis a seleccionar (tamaño de la muestra) debería ser fijada anteriormente por los directores de los programas utilizando la Tabla 3. La determinación del tamaño de la muestra no debería ser confiada al supervisor encargado de coleccionar los frotis ni a los técnicos. Lo mejor es que un mismo tamaño de muestra sea escogido y utilizado para todos los centros de la zona como lo muestra la Tabla V.2.

Si la variación del número total de frotis examinados o de las tasas de frotis positivos entre los diferentes centros es considerada excesiva, pueden hacerse modificaciones según los centros. En las zonas donde existe una gran variabilidad, los supervisores podrán inclusive utilizar una lista con la actividad de cada laboratorio del año anterior.

**Tabla 3. Tamaño anual recomendado de la muestra<sup>1</sup>**

**Tasa de frotis positivos**

Número de frotis negativos por año*	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	107	72	54	43	36	30
500	154	89	62	48	39	31
1000	180	96	66	49	40	33
5000	208	103	69	50	40	33
50000	216	104	69	51	40	33

<sup>1</sup> Basado en el método LQAS aplicado a los frotis negativos para una sensibilidad de 80%, especificidad del 100%, número de errores aceptables  $d = 0$ , y 95% de intervalo de confianza. El tamaño de muestra aumenta proporcionalmente con las tasas de frotis positivos para generar un tamaño final de muestra que incluye los frotis positivos y negativos.

\*Elija la línea con el número de frotis por año lo más próximo al promedio de distrito o al número total de frotis realizados en el laboratorio.

### Ejemplo de determinación del tamaño de la muestra

#### Paso 1

- Elabore la lista de los laboratorios de microscopía de su país (o de región cuando los países son grandes), con la siguiente información:
  - Número de frotis por año.
  - Número de frotis positivos por año.
  - Número de frotis negativos por año.

Laboratorio	Frotis/año	Positivo/año	Negativo/año
A	1500	200	1300
B	2550	351	2199
C	1990	156	1834
D	2085	151	1934
E	900	85	815
F	1158	100	1058
G	1250	125	1125
H	885	101	784
I	2569	335	2234
J	500	55	445
<b>Total</b>	<b>15387</b>	<b>1659</b>	<b>13728</b>

**Paso 2**

- Calcule la tasa de frotis positivos (TFP) en cada laboratorio y redondee al porcentaje más próximo.

**TFP = (Número de frotis positivos por año/Número de frotis hechos por año) x 100**

Es más fácil para realizar este cálculo usar los datos del año anterior del registro de laboratorio. Debe incluirse los frotis de diagnóstico y de control.

Laboratorio	Frotis/año	Pos/año	TFP
A	1500	200	13%
B	2550	351	14%
C	1990	156	8%
D	2085	151	7%
E	900	85	10%
F	1158	100	9%
G	1250	125	10%
H	885	101	11%
I	2569	335	13%
J	500	55	11%

### **Paso 3**

- Calcular el promedio de la TFP para el país (o región) y redondearlo al porcentaje más cercano.

### **Promedio de TFP = (Total de frotis positivos / número total de frotis) x 100**

Promedio de TP =  $(1659/15\ 387) \times 100 = 10,8\%$  o 10% (redondeado)

Nota: si la variación del número total de frotis negativos o de la tasa de frotis positivos entre los laboratorios es excesiva, pueden hacerse algunas modificaciones en los laboratorios que lo necesiten. En las zonas donde hay mucha variación, los supervisores podrán inclusive utilizar una lista con todas las actividades de cada laboratorio del año anterior.

### **Paso 4**

- Calcule el número promedio anual de frotis negativos y redondearlo al más próximo.

### **Volumen promedio de trabajo = Número de frotis N realizados / número de laboratorios**

Volumen promedio de trabajo =  $13\ 728 / 10 = 1\ 372$  o 1 000 (redondeado)

Nota: el tamaño de la muestra no varía considerablemente cuando el volumen anual de trabajo excede los 1000 frotis, por lo tanto, redondear no afecta al cálculo.

**Paso 5**

- Decida los límites aceptables de la competencia y calidad de los resultados en su país (o región).
- Sensibilidad relativa (habilidad de los técnicos para detectar BAAR con respecto a los controladores) Recomendado:  
Si el programa es reciente 75%.  
Si es un programa establecido 85%.  
  
Seleccionada 80%.
- Número aceptable o tolerable (número máximo de errores permitidos antes de aplicar medidas correctivas)

Recomendado:

Si los recursos son limitados, cero.

Si existen recursos adecuados disponibles, uno.

Seleccionado, cero.

**Nota:** debido a las limitaciones inherentes a la baciloscopia, la sensibilidad de 100% con respecto a los controladores es imposible. Una concordancia entre técnicos y controladores debería acercarse a 95% en el caso de los frotis positivo elevado (2+/3+), pero puede ser tan bajo como 30 - 50% en el caso de los positivos débil (1-9 BAAR/100 campos). Por estas razones, debe seleccionarse una sensibilidad relativa basada en una calidad esperada razonable.

**Nota:** el número aceptable de errores tiene un impacto directo sobre el tamaño de la muestra – más grande es ese número,



mayor será el tamaño requerido. Para obtener el mas pequeño y eficiente tamaño de muestra se recomienda un número aceptable de errores de cero, pero esto significa que un simple error debería ser considerado como una advertencia de posibles problemas y deberían ser investigados. El aumento del número aceptable a  $d = 1$  permitirá un error pero, como consecuencia, el tamaño de la muestra aumentará de manera importante. El número aceptable esta explicado con más detalles en el Anexo D.

**Nota:** el hecho de elegir cero errores significa que se puede estar 95% seguro que el laboratorio ha alcanzado la calidad esperada si ningún error es informado. Sin embargo, si los errores mayores y menores son incluidos en el cálculo del tamaño de la muestra, la interpretación de los resultados individuales de los laboratorios debería tener en cuenta el número y el tipo de errores, como así también su evolución en el tiempo.

#### **Paso 6**

- Seleccione la tabla apropiada de tamaño de la muestra.
- La Tabla 3 puede ser utilizada por la mayoría de los laboratorios si una sensibilidad de 80% y un número aceptable de errores de cero son elegidos.
- En lado izquierdo de la Tabla 3, busque en la primera columna el promedio anual del número de frotis negativos de su país o región.
- Cuando elija una sensibilidad diferente o un número aceptable de errores, remítase a las Tablas de los Anexo D.3 y D.4

Número promedio de frotis negativos = 1 000

- En la parte superior de la tabla, identifique la TFP promedio de su país o región, como está calculado más arriba

TFP promedio = 10%

- Localice el tamaño de muestra correspondiente a ese punto.

Tamaño de la muestra = 96

### **Paso 7**

- Decida un intervalo de tiempo conveniente para seleccionar los frotis.

Recomendado

Cuatro veces por año, es decir trimestralmente.

- Divida el tamaño de muestra requerida por el intervalo de tiempo para calcular el número de frotis a ser colectados en cada período.

$96 / 4 = 24$  frotis para coleccionar trimestralmente.

### **Paso 8**

- Colecte sistemáticamente los frotis usando el registro de laboratorio.
- Divida el número de frotis realizados durante ese período (trimestre) por el tamaño de la muestra para obtener el intervalo que separa dos frotis que serán incluidos en la muestra.

- Utilice un número al azar como punto de partida para coleccionar los frotis de la muestra aleatoria seleccionada.
- Si un frotis no se encuentra, seleccione el siguiente en el registro de laboratorio, independientemente del resultado y continúe sistemáticamente, utilizando el intervalo de muestreo.

Supongamos 250 frotis que hayan sido realizados durante el último trimestre. 24 deben ser colectados, por lo tanto:

$$250 / 24 = 10,4$$

Elija un número al azar para el primer frotis.

Colecte cada diez frotis uno luego del primero elegido al azar.

Los frotis son colectados y extraídos del total de los frotis realizados, independientemente de los resultados positivos o negativos. Este método de muestreo aleatorio asegura que el número de frotis positivos, negativos, falsos negativos y falsos positivos de la muestra sea representativo de la población entera de frotis realizados en el laboratorio. Además, este método elimina la necesidad de seleccionar los frotis positivos separados de los negativos y ayuda a asegurar que la relectura sea realizada a ciegas, ya que el total de la muestra estará bien mezclada cuando la serie llegue al evaluador.

## **B. Muestreo del frotis**

La muestra colectada debe ser aleatoria y representativa de todos los frotis leídos por los laboratorios, además los resultados

de los laboratorios periféricos deben ser resguardados por los responsables de los laboratorios sin ser mostrados a los evaluadores. Se deberá tener en cuenta los siguientes aspectos:

### **1. Almacenamiento de frotis**

El laboratorio debe almacenar los frotis de manera que se puedan encontrar y recuperar fácilmente para realizar la selección de la muestra. Por lo tanto, es mejor conservar todos los frotis, almacenándolos en cajas en el mismo orden que en la lista del registro de laboratorio.

Para el caso de los laboratorios de gran volumen de trabajo no es práctico almacenar todos los frotis; por lo tanto, cada programa deberá determinar un número apropiado basado en el tamaño de muestra necesario y en la frecuencia del muestreo. Se debe proporcionar un número suficiente de cajas reutilizables para almacenar la cantidad necesaria de frotis, utilizando un sistema de descarte de frotis de las cajas más antiguas y rellenándolas con nuevos frotis. Los laboratorios con poco volumen de trabajo deberán tener un número de cajas disponible para almacenar todos los frotis.

Los frotis deben estar bien enumerados, de acuerdo al cuaderno de registro del laboratorio. El resultado del examen no debe aparecer escrito sobre el frotis.

Antes de ubicar los frotis en las cajas para su almacenamiento, estos deben ser limpiados con xileno para eliminar el aceite de inmersión. Si no hay disponible xileno, el exceso de aceite puede ser quitado con papel absorbente. Almacenar

los frotis en las cajas, una separada de las otras y cerrarlas herméticamente para evitar la entrada de luz solar.

## **2. Colecta de frotis**

La relectura requiere un personal formado y capacitado para coleccionar los frotis y asegurar que el muestreo sea aleatorio. Para evitar toda parcialidad, el técnico del laboratorio periférico no deberá nunca realizar el muestreo. El evaluador solicitará un número correlativo de frotis de acuerdo a su TFP obtenido previamente, de esta manera, se evitará que el técnico pueda interferir el muestreo.

## **3. Selección de frotis**

Con el objetivo de eliminar todo sesgo posible durante la selección de frotis, esta debe hacerse directamente usando el registro de laboratorio. Este sistema asegura que los técnicos almacenen todos los frotis, independientemente del resultado o calidad. Los frotis no deben ser seleccionados a partir de las cajas para almacenarlos.

Los frotis son colectados a partir del total, independientemente del resultado positivo o negativo. Siguiendo este método, durante el transcurso de cuatro trimestres de colección (un año), se habrá obtenido un tamaño anual de muestra como para permitir una conclusión estadísticamente precisa.

El Laboratorio evaluado deberá conservar el total de las láminas del trimestre.

Los laboratorios evaluados deberán informar al laboratorio supervisor de su jurisdicción con un máximo de dos días después de finalizado cada trimestre, el total de láminas producidas por cada laboratorio.

El laboratorio evaluador, deberá realizar el cálculo para la selección de las láminas del trimestre de acuerdo al criterio de la Tabla 4.

Al obtener el cálculo, el evaluador deberá solicitar a sus laboratorios las láminas para seleccionar el número aleatorio a utilizar como punto de partida, hasta llegar al número requerido (revisar ejemplo).

Si falta un frotis, este es reemplazado por el siguiente identificado en el registro de laboratorio, independientemente del resultado. Esta substitución es documentada en el formulario de colecta. Si varios frotis están ausentes, significa que existe un problema en el laboratorio. Estos problemas pueden ser por ejemplo que los técnicos destruyan los frotis de mala calidad, que los frotis no hayan sido leídos o que todos los frotis no hayan sido leídos para la relectura. El supervisor debería considerar seriamente este problema y recomendar una acción correctiva.

**Tabla 4. Ejemplo de muestreo**

El número promedio de frotis negativos realizados por los laboratorios evaluados es aproximadamente 1000 por año, con una tasa de frotis positivos de 10%. Según la Tabla 3, el tamaño anual de la muestra de la relectura a ciegas corresponde a 96 frotis por año, por lo tanto 24 frotis deben ser colectados durante cada visita trimestral. El supervisor calcula que el laboratorio ha analizado 250 frotis desde la última visita. Seleccione el número aleatorio a utilizar como punto de partida (en este ejemplo es el noveno frotis) y luego cada diez frotis uno es colectado para alcanzar los 24 requeridos.

**Registro de laboratorio (los círculos deberían aparecer cada diez frotis)**

Nº de serie en el Lab.	Fecha	Nombre	Sexo M/F	Nombre de la unidad de tratamiento	Dirección nuevos pacientes	Motivo del examen Diagnóstico   Control	Resultados de las muestras			Firma	Observaciones
							1	2	3		
18											Neg
19											Neg
20											Neg
21											Neg
22											5BAAR
23											Neg
24											Neg
25											Neg
26											Neg
27											3+
28											Neg
29											Neg
30											Neg
31											Neg
32											Neg
33											Neg
34											3+
35											Neg
36											Neg
37											Neg
38											Neg

## A. Proceso de relectura

La relectura proporciona una oportunidad para evaluar elementos relacionados con la calidad en el nivel periférico. Los frotis pueden ser evaluados para estimar la calidad de la muestra (esputo o saliva), el tamaño y espesor apropiados y la calidad de la coloración.

Los problemas detectados por los evaluadores deberán ser anotados en el formulario ya que esta información puede ser muy útil para los responsables de la retroinformación a los laboratorios periféricos, para evaluar los resultados falsos positivos o negativos elevados, calidad técnica del frotis (calidad técnica del extendido y de la coloración) y tomar acciones correctivas, si son necesarias.

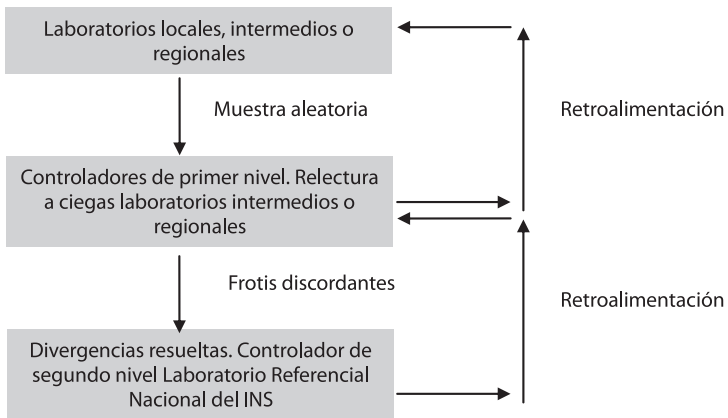
La baciloscopía es una técnica con errores inherentes, aun cuando esta ejecutada por el más experto técnico. Para distribuir equilibradamente el trabajo de relectura el primer nivel de control será usualmente realizado en el nivel intermedio.



---

**Organización del proceso de relectura:**

---



La relectura debe ser a ciegas para asegurar la objetividad. El evaluador que hace la relectura no debe conocer el resultado original de los frotis. En caso que exista una discrepancia, el responsable del laboratorio, para resolver los resultados divergentes, requerirá conocer los resultados. El responsable deberá leer hasta 300 campos aproximadamente.

Los laboratorios intermedios, serán evaluados por sus laboratorios regionales y este, a su vez, por el Laboratorio de Referencia Nacional.

### E. Tipos de errores

Una vez más, es importante enfatizar que la relectura no es un método para validar el diagnóstico individual del paciente, sino para evaluar la calidad global del laboratorio, detectando niveles de errores inaceptables y para tomar medidas correctivas para obtener una mejora en la calidad del trabajo. Para el propósito de la EEC los tipos de errores están clasificados en función de la calidad esperada de laboratorio y no en función del manejo de paciente.

**Tabla 5. Clasificación de los errores**

Resultado evaluado	Resultados del evaluador				
	Negativo	1-9 BAAR/100 campos	1+	2+	3+
Negativo	Correcto	FNB	FNE	FNE	FNE
1-9 BAAR/100 campos	FPB	Correcto	Correcto	EC	EC
1+	FPE	Correcto	Correcto	Correcto	EC
2+	FPE	EC	Correcto	Correcto	Correcto
3+	FPE	EC	EC	Correcto	Correcto

Correcto:	Ausencia de errores	
EC	Error de cuantificación	Error menor
FNB	Falso negativo bajo	Error menor
FPB	Falso positivo bajo	Error menor
FNE	Falso negativo elevado	Error mayor
FPE	Falso positivo elevado	Error mayor

## **F. Resultados discordantes**

Las discordancias entre el resultado inicial y los resultados del evaluador deben ser resueltos por un segundo evaluador o responsable de laboratorio. Sin esto es imposible identificar las causas de los errores y existe el riesgo de informar erróneamente a los microscopistas de los laboratorios locales. Las discordancias pueden ser resueltas en el laboratorio intermedio, regional o nacional. Para los propósitos de la EEC el resultado del segundo evaluador es considerado "final", y determina si el error ha sido cometido en el laboratorio local o en el laboratorio intermedio o regional. Aun con una buena competencia y calidad de trabajo en los laboratorios locales, intermediario y regionales es razonable esperar 5 a 10% de frotis en la muestra de la relectura que necesitan ser reexaminados por un segundo evaluador, para resolver las discordancias.

Para que los controles sean considerados válidos, los evaluadores deben presentar FN y casi ningún FPE. Si estos últimos presentan claramente tasas mayores de FN que los centros evaluados por ellos mismos, las tasas de FN de esos centros son con certeza subestimados. En el caso que los centros son competentes y que ambos controles estén bien realizados, los FPB estarán divididos equitativamente entre los centros locales, intermedios y regionales. Una distribución desigual de los FPB (y a veces también los FPE) puede identificar un problema en uno de los niveles de control.

## G. Evaluación de la calidad técnica del frotis

### 1. Extendido del frotis

La calidad del extendido influirá en una buena visualización y distribución homogénea de los bacilos en los campos microscópicos útiles que se van a observar en el microscopio.

- **Bueno:** cuando el extendido es adecuado, presenta homogeneidad de la muestra en la lámina. Esta calidad se obtiene cuando se toma muestras mucopurulentas.
- **Deficiente:** incluye a:
  - **Fino:** cuando se toma una muestra hidrolizada, saliva o la parte no útil de la muestra, presentando campos sin presencia celular, logrando una tinción muy tenue.
  - **Grueso:** cuando se toma excesiva cantidad de la muestra purulenta, presentando una coloración excesiva, ya que no se logra realizar una buena coloración.
  - **No homogéneo:** es cuando la muestra no es extendida correctamente, encontrando algunos campos sin presencia celular (transparentes).

### 2. Coloración del frotis

- **Decoloración de los frotis**

Ha sido bien establecido que la coloración con fucsina es inestable bajo la luz solar directa y en condiciones de altas

temperaturas y humedad. El tiempo que toma para completar la decoloración depende de varios factores, incluyendo la consistencia del frotis, del agrupamiento de los BAAR y de la calidad de la coloración.

La decoloración excesiva contribuye a un alto número de falsos negativos detectados durante la relectura. La recoloración es necesaria para resolver esas divergencias.

- **Problemas de la coloración**

La recoloración es útil para resolver los problemas ligados con los falsos negativos elevados que pueden deberse a una decoloración excesiva o a los falsos positivos elevados por los precipitados de colorante u otros problemas durante la preparación del frotis o durante la coloración.

En algunos casos, puede ocurrir que los BAAR sean eliminados del frotis durante la recoloración; sin embargo, esto ocurre solamente cuando los frotis son muy finos, realizados a partir de esputos licuados o concentrados. En el caso de las muestras con escaso número de BAAR, puede resultar en un informe de falso negativo por parte del evaluador.

El colorante de mala calidad o problemas de método de coloración, en el laboratorio local e intermedio, pueden ser causa de resultados falsos negativos.

La recomendación clásica para la relectura es examinar los frotis en las mismas condiciones de su recepción para que la calidad de la coloración pueda ser evaluada.

Sin embargo, los problemas de la coloración que resultan en BAAR no coloreados pueden ser evidentes a los evaluadores e importantes causas de error permanecerán sin ser detectadas. Por estas razones, se recomienda la recoloración de los frotis previamente a la relectura.

**Nota:** para evaluar la concordancia y calidad técnica de las láminas, ver Anexo 05.

## H. Interpretación

Cuando se establece un sistema de relectura, será importante para la red de laboratorios establecer los estándares necesarios para determinar la calidad aceptable, así también recomendar las etapas de investigación de los errores y las acciones apropiadas para corregir los problemas.

Este sistema de relectura evalúa tanto el número como el tipo de errores detectados, cuando se controla la calidad del laboratorio. Por ejemplo, los tamaños de las muestras basados en una sensibilidad de 80% en comparación con los evaluadores, es probable encontrar uno o más errores en los laboratorios con nivel esperado aun mayor. Este es un concepto importante a tener en cuenta por el Laboratorio de Referencia Nacional en el momento de la retroinformación a los laboratorios locales e intermedios. Lógicamente, un sistema de relectura comenzará por focalizarse en los errores mayores en los laboratorios con un gran número de errores.

El objetivo de obtener una buena competencia será alcanzado si no existen discordancias. Si son detectados los errores, la in-

terpretación y las acciones apropiadas a implementar pueden ser diferentes dependiendo del número y tipo de error, como así también los recursos y capacidad del programa.

**Falsos positivos elevados (FPE):** deberían ser muy raros de observar. Un FPE aislado es usualmente debido a errores administrativos o a registros deficientes en los laboratorios locales. Un error en el muestreo, donde un frotis incorrecto es coleccionado, puede causar falsos positivos ocasionales. Los frotis que inicialmente hayan sido informados positivo 1+ a 3+ y que son repetidamente observados como negativos por los evaluadores pueden ser debido a una transcripción incorrecta en el registro, una falsificación deliberada de los resultados, una técnica inadecuada, microscopios de mala calidad o simplemente una negligencia general. Las tasas elevadas de FPE son debidas típicamente a microscopios descompuestos o microscopistas mal formados o inexpertos, especialmente en los centros con pocos frotis a examinar.

Si casi todos los frotis positivos son FPE, acompañados de numerosos FNE, la causa más probable es el uso de un microscopio defectuoso. Ya que todo resultado FPE indica un problema, debe realizarse inmediatamente una investigación y la implementación de la acción correctiva requerida.

**Falsos negativos elevados (FNE):** los resultados falsos negativos pueden ser debidos a problemas técnicos como la utilización de colorantes de mala calidad, tiempo de coloración o de calentamiento insuficiente, malos microscopios o inadecuada formación de los técnicos.

Los errores falsos positivos bajos y falsos negativos bajos también se pueden esperar, nuevamente debido a los problemas inherentes a la baciloscopia. Bajo positivo (paucibacilar) está definido en la norma técnica de procedimientos como 1-9 BAAR/100 campos, y estos resultados se encuentran regularmente. Como los BAAR no están distribuidos homogéneamente en el esputo, muy pocos bacilos pueden ser detectados por un técnico y no por otro que examina otros campos diferentes. Por estas razones, la interpretación de los errores falsos positivos bajos y los falsos negativos bajos pueden ser considerados separadamente de los errores mayores FPE/FNE.

***Falsos negativos bajos y falsos positivos bajos (FNB y FPB):***

Son errores menores. Es importante incluirlos en el sistema de la relectura de las láminas, porque estos tipos de errores constituyen un indicador más sensible de la competencia y calidad de los laboratorios. Un número elevado de errores menores puede representar problemas de competencia y calidad en los laboratorios locales e intermedios y puede ser útil abordarlos luego que las deficiencias más importantes hayan sido corregidas.

Una vez resueltos los problemas mayores, los errores menores sirven también como un control continuo de competencia y como un medio de validación de los resultados de relectura, ya que se esperaría observar una tasa similar de estos tipos de errores cometidos por los técnicos de los laboratorios los laboratorios locales e intermedios y por los evaluadores siempre y cuando la calidad global sea equivalente.

Observar regularmente algunos falsos positivos bajos junto con ocasionales falsos positivos elevados, puede indicar que el téc-



nico no reconoce bien los BAAR necesitando, por lo tanto, una capacitación adicional. Una frecuencia alta de falsos negativos bajos puede indicar una sobrecarga de trabajo, resultando en un examen superficial de frotis por el técnico. Los microscopios de mala calidad o insuficiente luz pueden también contribuir a un alto número de falsos negativos bajos.

**Los errores de cuantificación (EC):** son menos importantes durante las fases iniciales de la implementación de la EEC. Observar una cantidad considerable de variaciones en la cuantificación es usual, solamente debido a la lectura de diferentes campos por diferentes evaluadores.

Por estas razones los errores de cuantificación se definen como la diferencia de por lo menos dos grados de la lectura de los frotis positivos. Sin embargo, la cuantificación correcta puede a veces ser útil al médico clínico para tomar decisiones en los casos difíciles, por lo tanto es un ideal por el cual se debería esforzar. Además, la observación regular de resultados de lectura con bajos números de BAAR puede aportar datos útiles durante la investigación de las tasas de errores falsos negativos elevados.

Ejemplos de diferentes métodos de interpretación:

- a. Todo error mayor (FPE o FNE) revela una calidad inaceptable y trae como consecuencia una acción correctiva. Los errores menores son informados al laboratorio local, intermedio o regional, pero la calidad de ese laboratorio es aún considerada aceptable, a no ser que esos errores aparezcan en cantidad significativa.

- b. Todo error mayor (FPE o FNE) puede indicar una calidad o competencia inaceptable y debería resultar en una evaluación e implantación de medidas correctivas, si son necesarias. Es posible que no se encuentren problemas significativos en la práctica de laboratorio y la evolución de la calidad debería ser evaluada con el tiempo. Los errores menores requieren posteriores evaluaciones solamente si exceden el número predeterminado, o excede el número promedio observado en todos los laboratorios o si el número de errores menores demuestra una tendencia con el tiempo.
  
- c. Todo FPE y más de tres FNB es considerado de calidad inaceptable y requiere la implementación de una acción correctiva. Uno o dos FNE pueden indicar una calidad inaceptable y debería resultar en una evaluación y acción correctiva, si es necesario. Es posible que ningún problema significativo en la práctica de laboratorio sea encontrado y la evolución de la calidad debería ser evaluada con el tiempo. Los errores menores requieren posteriores evaluaciones, solamente si ellos exceden el número predeterminado o exceden el número promedio observado en todos los laboratorios, o si el número de errores menores demuestran con el tiempo una tendencia.

#### **I. Retroalimentación**

El propósito primario de un sistema de relectura es mejorar la calidad de la baciloscopía, por lo tanto, una retroinformación regular y oportuna a los laboratorios locales, intermedios y regionales es esencial si se espera un mejoramiento importante

de la calidad. Deben enviarse informes anuales a la autoridad sanitaria regional, a los médicos clínicos y a los técnicos de laboratorio. Aunque el análisis final de los resultados y las conclusiones deben esperar la relectura de la muestra total (anual), las observaciones y resultados preliminares, la retroalimentación y las acciones correctivas pueden ser posibles al final de cada período del muestreo. Esto será obvio en el caso de los laboratorios que presentan una calidad pobre, donde la resolución de problemas inmediatos es necesaria de manera urgente.

Los resultados de los evaluadores en la retroinformación, debería incluir el envío de vuelta de los frotis cuyos resultados eran discordantes, para ser releídos por el técnico del laboratorio local, intermedio o regional. Esto les da la posibilidad de mostrar lo que ellos interpretaron como BAAR o de observar los BAAR que no habían encontrado durante el primer examen.

Cuando existan discordancias bajas o elevadas, deberá realizarse las visitas de supervisión ya que ofrecen la mejor oportunidad para revisar los resultados de la relectura con los técnicos en los laboratorios locales, intermedios o regionales, identificar las fuentes potenciales de error e implementar las medidas correctivas.

Todas las causas potenciales de error deberían ser consideradas, incluyendo la calidad de los colorantes y la técnica de coloración, la calidad de los microscopios y los procedimientos administrativos que pueden contribuir a errores de registro. Todo problema que contribuya a la aparición de errores debe ser resuelto. Las causas posibles de errores y las etapas de evaluación sugeridas

están listadas en el Anexo 3. Una formación correctiva debe ser proporcionada a los técnicos incapaces de identificar los BAAR en los frotis. En algunos casos no serán detectados problemas obvios. El control suplementario por envío de panel de frotis y una relectura a ciegas continua son recomendados para evaluar la calidad del laboratorio.

Debido a las numerosas variables que pueden afectar la calidad del laboratorio y al cambio potencial de estos factores con el tiempo, se recomienda que la relectura sea continua aun luego de haber obtenido e identificado un nivel de calidad óptimo y regular.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Ängeby KA, Haffner SE, Diwan VK. Should the 'bleach microscopy method' be recommended for improved case detection of tuberculosis? Literature review and key person analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8:806-815.
2. Moore DF, Guzman JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52:247-254.
3. Laserson KF, Yen NT, Thornton CG, *et al.* Improved sensitivity of sputum smear microscopy after processing specimens with C18-carboxypropylbetaine to detect acid-fast bacilli: a study of United States-bound immigrants from Vietnam. *J Clin Microbiol* 2005;43: 3460-4362.
4. Steingart KR, Ng V, Henry M, *et al.* Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2006;6:664-674.
5. Organización Mundial de la Salud. ¿Qué es la estrategia DOTS/TAES? Organización Mundial de la Salud. Ginebra,1999. WHO/CDS/CPC/TB/1998. 270.
6. Kuszniierz GF, Latini OA, Sequeira MD. Quality assessment of smears microscopy for acid-fast bacilli in the Argentine tuberculosis laboratory network, 1983-2001. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8:1234-1241.
7. Aziz MA, Ba F, Becx-Bleumink M, *et al.* External quality assessment for AFB smear microscopy. PHL, CDC, IUATLD,KNCV, RIT, WHO. Washington, DC: Association of Public Health Laboratories; 2002.

## II. ANEXOS

### ANEXO 1

#### Evaluación de paneles de láminas de baciloscopías (centro a la periferia)

##### 1. Preparación del panel de láminas

###### a. Materiales

- Tubos plásticos de 50 mL tapa rosca.
- Formaldehído al 40%.
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 4%.
- Vortex.
- Agua destilada.
- Centrifuga.
- Láminas.
- Baño maría
- Muestras positivas
- Muestras negativas.

###### b. Preparación de los frotis: método de NaOH

**b.1 Preparación del panel frotis positivo:** deberán ser muestras frescas (no más de dos días), en cantidad mínima de 3 mL, con una carga bacilar de >2+ BAAR (por coloración Ziehl Neelsen), la calidad del esputo deberá ser mucopurulenta. Los frotices se realizarán de la siguiente manera:

- Colocar 3 mL de una muestra positiva en un tubo plástico de 50 mL con tapa rosca. Si el volumen de la muestra es superior a 3 mL, dividirla en dos alícuotas en tubos separados.
- Agregar por cada mL de muestra de esputo, una gota (aproximadamente 50 uL) de formaldehído al 40% y mezclar bien usando vortex.
- Incubar durante una hora a temperatura ambiente (25 °C - 30 °C).
- Agregar 1 mL de NaOH al 4% (si el esputo es demasiado grueso agregar hasta 2 mL de la solución de NaOH para que la concentración final se mantenga en 1-2%). Mezclar vigorosamente usando vortex durante 4-5 minutos. Completar hasta 20 mL de agua destilada y homogenizar. Incubar en baño maría durante 30 minutos a 55 - 60 °C., mezclar periódicamente invirtiendo el tubo durante la incubación.
- Agregar agua destilada hasta un volumen total de 40 mL, mezclar invirtiendo el tubo.
- Centrifugar a 3000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente (25 - 30 °C).
- Descartar cuidadosamente el sobrenadante, agregar 0,5 - 1 mL de agua destilada para resuspender el sedimento. Si el esputo original fue distribuido en alícuotas, los sedimentos obtenidos, luego de la centrifugación de todos los tubos, deberán ser mezclados antes de ser resuspendidos.

**b.2 Preparación de panel frotis negativo:** deberán ser muestras frescas (no más de dos días), en cantidad mínima de 5 mL o más, BAAR negativo (por coloración Ziehl Neelsen) y la calidad del esputo deberá ser mucosa. Los frotices se realizarán de la siguiente manera:

- Distribuir alícuotas de 3-4 mL de esputo BAAR negativo en tubos de 50 mL con tapa rosca. Hacer un *pool* de esputos negativos, mezclar y

distribuir en alícuotas de 3 mL. Los esputos deberán ser confirmados como baciloscopia negativa, previamente a la preparación del *pool*.

- Agregar por cada mL de muestra de esputo, una gota (aproximadamente 50 uL) de formaldehído al 40% y mezclar bien usando vortex.
- Incubar durante una hora a temperatura ambiente (25 °C - 30 °C). Agregar 1 mL de NaOH al 4% (si el esputo es muy espeso, agregar hasta 2 mL de la solución de NaOH 4% (si el esputo es muy espeso agregar hasta 2 mL de la solución de NaOH para mantener la concentración final a 1-2%). Mezclar usando vortex durante 2-3 minutos.
- Agregar hasta 20 mL de agua destilada mezclar bien.
- Incubar en baño maría durante 10 minutos a 55 - 60 °C. (Nota: Las muestras negativas deberán ser calentadas durante menos tiempo que las positivas para preservar los glóbulos blancos.

**c. Evaluación del panel frotis positivo**

- a. Con la ayuda de un pipeta Pasteur descartable, colocar una gota (aproximadamente 100 uL) de la suspensión en un portaobjeto y realizar un extendido de aproximadamente 1 x 2 cm.
- b. *Stock* positivo: es óptimo obtener una concentración de 50-60 BAAR por campo microscópico.

**d. Proceso de dilución**

- a. Hacer diluciones con la preparación de la muestra positiva de acuerdo con las directivas de la OMS para la cuantificación de los BAAR:

0 BAAR/100 campos:	Negativo
1-9 BAAR/100 campos:	Número exacto de BAAR
10-99 BAAR/100 campos:	1+



1-10 BAAR/campo/50 campos:	2+
>10 BAAR/campo/20 campos:	3+

- b. Elija una concentración conveniente de BAAR para cada caso dentro del rango de la escala sugerida. Para obtener los mejores resultados se recomienda usar frotis de 20 BAAR/campo para los positivos 3+, 5 BAAR/campo para los positivos 2+, 50 BAAR/100 campos para los positivos 1+, y 5 BAAR/100 campos para los cuales el número exacto debe ser informado (número contable de BAAR).
- c. Preparar 3-4 mL de cada suspensión para poder realizar suficiente cantidad de frotis.
- d. Para facilitar los cálculos, las alícuotas de las preparaciones positivas y negativas son medidas en gotas. Calibrar una pipeta Pasteur descartable (medir la cantidad de gotas contenidas en 1mL de suspensión de esputo). Nota: no utilizar agua para realizar la calibración ya que la cantidad de gotas puede resultar diferente a causa de la ausencia de viscosidad.
- e. Para el cálculo del factor de dilución usar la fórmula siguiente:

$$N=(CD/CA)*A$$

Donde:

**N:** es la cantidad de gotas de la preparación de muestras positivas para ser agregada.

**CD:** es la concentración deseada de BAAR

**CA:** es la Concentración actual de BAAR

**A:** es la cantidad de gotas en un volumen dado que se estimado durante la calibración.

**Ejemplo 1:**

La concentración de BAAR en la suspensión *stock* (**CA** = 65 BAAR/campo y tenemos que preparar 4 mL de suspensión (+++),

**A** = 60 gotas

(**CD** = 20 BAAR/campo).

En este caso **N** = (20 BAAR/65 BAAR) \*60 gotas

N = 18 gotas. Por lo tanto, 18 gotas de la muestra preparada positiva se mezcla con 42 (60-18=42) gotas de la muestra preparada negativa.

$$N = ( CD / CA ) * A. N = 20/65 * 60$$

$$N = 18$$

**Ejemplo 2:**

La concentración de BAAR en la suspensión *stock* (CA = 65 BAAR/campo y tenemos que preparar 4 mL de suspensión (++) ,

**A** = 60 gotas

(**CD** = 5 BAAR/campo).

En este caso **N** = (5 BAAR/65 BAAR) \*60 gotas

N = 4.6 gotas (aproximadamente 5 gotas). Por lo tanto, 5 gotas de la muestra preparada positiva se mezcla con 55 (60-5=55) gotas de la muestra preparada negativa.

$$N = ( CD / CA ) * A. N = 5/65 * 60$$

$$N = 4.5 \sim 5$$

### Ejemplo3:

La concentración de BAAR en la suspensión *stock* (CA = 65 BAAR/campo y tenemos que preparar 4 mL de suspensión (+),

**A** = 60 gotas

(**CD** = 50 BAAR/100 campos = 0.5 BAAR/campo

En este caso **N** = (0.5 BAAR/65 BAAR) \*60 gotas

N = 0.46 gotas (aproximadamente 0.5 gotas). Por lo tanto, 0.5 gotas de la muestra preparada positiva se mezcla con 59.5 (60-0.5=59.5) gotas de la muestra preparada negativa.

$$N = ( CD / CA ) * A. N = 0.5/65 * 60$$

$$N = 0.5 \text{ gotas} = 0.025 \text{ mL} = 25 \text{ uL}$$

### Ejemplo 4:

La concentración de BAAR en la suspensión *stock* (**CA** = 65 BAAR/campo y tenemos que preparar 4 mL de suspensión (N° ...BAAR) **A** = 60 gotas

(**CD** = 5 BAAR/100 campos) = 0.05 BAAR/campo.

En este caso **N** = (0.05 BAAR/65 BAAR) \*60 gotas

N = 0.046 gotas (aproximadamente 0.05 gotas). Por lo tanto, 0.05 gotas de la muestra preparada positiva se mezcla con 59.95 (60-0.05=59.95) gotas de la muestra preparada negativa.

$$N = ( CD / CA ) * A. N = 0.05/65 * 60$$

$$N = 0.05 \text{ gotas} = 0.0025 \text{ mL} = 2.5 \text{ uL}$$

### **Notas sobre el procedimiento**

- a. Para la lectura e interpretación de los resultados, es importante que la apariencia de los frotis sea homogénea y reproducible y, es por ello, que es beneficioso mantener estable la cantidad de linfocitos en varias diluciones. Para lograr esto se sugiere diluir los esputos negativos con agua destilada (previamente al agregado de NaOH) cuando la cantidad de linfocitos es relativamente alta y evitar diluir cuando la cantidad es baja.
- b. Cuando se realizan las suspensiones 1+ sería también útil preparar dos concentraciones diferentes: 50 BAAR/100 campos para la preparación de la suspensión 1+ y 15 BAAR/100 campos para la dilución siguiente hasta los frotis con escasos BAAR (con número contable de BAAR).

### **e. Preparación y validación de los lotes de frotis**

- Usando las preparaciones de *stocks* diluidos, prepare los lotes o series de frotis (se recomienda 50-100 frotis por serie). Nota: si los laboratorios son capaces de preparar frotis homogéneos y reproducibles, realizar varios frotis a partir de pocas muestras ayudará a ahorrar tiempo. Los frotis fijados al calor deberían mantenerse en buen estado durante meses si están conservados en lugar fresco y seco.
- La reproducibilidad de cada serie de frotis debe ser validada seleccionando una muestra de al menos seis frotis de cada serie para colorear y hacerlos examinar por diferentes técnicos. Las muestras producidas y controladas que no sean suficientemente reproducibles deberían ser descartadas.

## ANEXO 2

### VALORES EN FUNCIÓN DE LA SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y PREVALENCIA DE FROTIS POSITIVOS. Especificidad del 100%

Para la validación de la preparación de los paneles se utilizará el Formulario 1.

Tasa de positividad	Sensibilidad					
	65%	70%	75%	80%	85%	90%
0,5%	0,27%	0,22%	0,17%	0,13%	0,09%	0,06%
1,0%	0,54%	0,43%	0,34%	0,25%	0,18%	0,11%
2,0%	1,10%	0,87%	0,68%	0,51%	0,36%	0,23%
2,5%	1,38%	1,10%	0,85%	0,64%	0,45%	0,28%
3,0%	1,67%	1,33%	1,03%	0,77%	0,55%	0,34%
4,0%	2,24%	1,79%	1,39%	1,04%	0,74%	0,46%
5,0%	2,83%	2,26%	1,75%	1,32%	0,93%	0,58%
6,0%	3,44%	2,74%	2,13%	1,60%	1,13%	0,71%
7,0%	4,05%	3,23%	2,51%	1,88%	1,33%	0,84%
7,5%	4,37%	3,47%	2,70%	2,03%	1,43%	0,90%
8,0%	4,68%	3,73%	2,90%	2,17%	1,53%	0,97%
9,0%	5,33%	4,24%	3,30%	2,47%	1,75%	1,10%
10,0%	5,98%	4,76%	3,70%	2,78%	1,96%	1,23%
11,0%	6,66%	5,30%	4,12%	3,09%	2,18%	1,37%
12,0%	7,34%	5,84%	4,55%	3,41%	2,41%	1,52%
13,0%	8,05%	6,40%	4,98%	3,74%	2,64%	1,66%
14,0%	8,77%	6,98%	5,43%	4,07%	2,87%	1,81%
15,0%	9,50%	7,56%	5,88%	4,41%	3,11%	1,96%
16,0%	10,26%	8,16%	6,35%	4,76%	3,36%	2,12%

17,0%	11,03%	8,78%	6,83%	5,12%	3,61%	2,28%
18,0%	11,82%	9,41%	7,32%	5,49%	3,87%	2,44%
19,0%	12,63%	10,05%	7,82%	5,86%	4,14%	2,61%
20,0%	13,46%	10,71%	8,33%	6,25%	4,41%	2,78%
21,0%	14,31%	11,39%	8,86%	6,65%	4,69%	2,95%
22,0%	15,19%	12,09%	9,40%	7,05%	4,98%	3,13%
23,0%	16,08%	12,80%	9,96%	7,47%	5,27%	3,32%
24,0%	17,00%	13,53%	10,53%	7,89%	5,57%	3,51%
25,0%	17,95%	14,29%	11,11%	8,33%	5,88%	3,70%
26,0%	18,92%	15,06%	11,71%	8,78%	6,20%	3,90%
27,0%	19,92%	15,85%	12,33%	9,25%	6,53%	4,11%
28,0%	20,94%	16,67%	12,96%	9,72%	6,86%	4,32%
29,0%	21,99%	17,51%	13,62%	10,21%	7,21%	4,54%
30,0%	23,08%	18,37%	14,29%	10,71%	7,56%	4,76%
31,0%	24,19%	19,25%	14,98%	11,23%	7,93%	4,99%
32,0%	25,34%	20,17%	15,69%	11,76%	8,30%	5,23%
33,0%	26,52%	21,11%	16,42%	12,31%	8,69%	5,47%
34,0%	27,74%	22,08%	17,17%	12,88%	9,09%	5,72%
35,0%	28,99%	23,08%	17,95%	13,46%	9,50%	5,98%

### ANEXO 3

#### INVESTIGACIÓN DE ERRORES

Tipos de error	Causas posibles	Etapas de investigación recomendadas
FPE y FNE	Microscopio defectuoso Problemas en la coloración El técnico no reconoce los BAAR. Negligencia importante.	Examinar un frotis 3+ usando ese microscopio. Controlar los colorantes y el procedimiento de coloración. Verificar con frotis positivos y negativos en otro microscopio. Excluir otras causas.
Un solo FPE	Error administrativo. Lo mismo que para FPE.	Comparar el registro de laboratorio con el listado del CQ: ¿frotis correcto/resultado correcto? Excluir las causas de FPE.
Regularmente un FPE con o sin FPB	Registro de datos deficiente Problemas de coloración/decoloración. El técnico reconoce mal los BAAR.	Controlar la exactitud del registro y el llenado de otros registros. Controlar los colorantes y el procedimiento de coloración, considerar la recoloración para la relectura. Buscar en el registro de laboratorio resultados dudosos para el diagnóstico de pacientes sospechosos (sistemáticamente un solo positivo/positivo débil).
FPB raro	Puede esperarse.	No es necesaria una investigación, a no ser que el número observado aumente.
Numerosos FPB, con o sin FPE ocasionales	Problemas con los controladores. El técnico reconoce mal los BAAR. Colorantes contaminados.	Evaluar a los controladores. Controlar un la muestra de FPB seleccionada en el registro de laboratorio. Controlar los colorantes con frotis negativos conocidos.
Solo FNE	Error administrativo Frotis muy grueso/o poca luz. Negligencia grave.	Comparar el registro del laboratorio con la lista del CQ: número del frotis correcto y resultado. Evaluar la calidad de la preparación del frotis, controlar el microscopio. Excluir otras causas.
FNE frecuentes o numerosos FNB	Problemas de coloración/decoloración. Técnica de coloración deficiente. Problemas del microscopio. Microscopio mal mantenido. Colorantes/agua contaminada.	Controlar los colorantes y la realización de la técnica de coloración, considerar la recoloración para el control por relectura. así como para el caso de un solo FNE. Controlar el microscopio usando frotis positivo. Excluir otras causas. Controlar el colorante con frotis negativos conocidos.
Una gran proporción de FNB	Azul de metileno o agua contaminada.	Idem anterior.
Numerosos CE	Coloración deficiente.	Idem anterior.

**Formulario 1. REGISTRO DE VALIDACIÓN DE LOTES DE FROTIS**

Lote N.º	Preparación de los lotes		Evaluación de los frotis						Desviación estándar	Uniformidad (promedio menos dos desviaciones estándar)	Informe de resultados	
	N.º de frotis preparados	Fecha de preparación de frotis	Resultados de los frotis (BAAR por 100 campos)									
			1	2	3	4	5	6				Promedio



## INSTRUCTIVO PARA EL LLENADO DEL Anexo 1

- 1. Número de frotis realizados.** El laboratorio deberá registrar la cantidad de frotis preparados, a partir de cada muestra, para determinar cuántos están disponibles para las series de frotis. Se recomienda la preparación de 50 a 100 frotis, de acuerdo al número de laboratorios a evaluar de su jurisdicción.
- 2. Fecha de realización de los frotis.** Se trata de la fecha de producción de los frotis. El tiempo de conservación de los frotis sin que su calidad se encuentre afectada, no ha sido determinada, pero estimamos que el tiempo conveniente de conservación es de 4 – 6 meses.
- 3. Resultados de los frotis del panel (columnas 1-6 del Formulario 1).** Cada columna representa el número de BAAR/100 campos para seis frotis seleccionados de la muestra y examinados preferentemente por dos a seis técnicos diferentes. Para el caso de frotis positivos elevados (2+ o 3+) los técnicos pueden estimar el número de BAAR/100 campos seleccionando un número suficiente de campos representativos. Para el caso de los frotis positivos débiles (número contable de BAAR/100 campos y 1+) y los frotis negativos los técnicos deberían examinar como mínimo 300 campos y registrar el número promedio de BAAR/100 campo.
- 4. Promedio.** Es calculado a partir de los resultados de los frotis 1-6 (ver ejemplo).

- 5. Desviación estándar.** La desviación estándar es calculada a partir de los frotis 1-6 (ver ejemplo).

$$\sqrt{\frac{n\sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}}$$

- 6 Uniformidad.** El resultado de la uniformidad es calculado utilizando la siguiente fórmula:

Promedio [M] menos dos desviaciones estándares [DS].

Si M-2 SD es >0 luego la uniformidad es óptima (suficiente).

Si M-2 SD es <0 luego la uniformidad es deficiente (insuficiente).

Si la uniformidad es deficiente, significa que hay demasiada variación en el número de BAAR por frotis y esa muestra no es suficientemente homogénea o uniforme para ser usada en el control por envío de paneles de frotis, destinados a una evaluación fiable de la calidad de un laboratorio. Esta fórmula proporciona una evaluación objetiva de la uniformidad, pero el laboratorio debería revisar y determinar cuál es la variación aceptable dentro de una muestra de frotis.

- 7 Informe de los resultados.** Se trata de los resultados de todos los frotis del panel. Este resultado debe ser representativo de los seis frotis examinados y la muestra debe reunir los criterios de uniformidad.

**Formulario 2. REGISTRO DE LOS CONTROLES POR ENVÍO DE PANELES DE FROTIS**

Laboratorio central responsable del control: \_\_\_\_\_

Lote de frotis N.º: \_\_\_\_\_

Fecha de envío de los paneles a los laboratorios locales, intermedios o regionales: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Frotis N.º	Lote N.º	Resultado esperado (Formulario 1)	Resultados de los laboratorios locales, intermedios o regionales										Observaciones		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

**Formulario 3. REGISTRO DEL PANEL DE FROTIS: INFORME DE RESULTADOS Y FORMULARIO DE RETROALIMENTACIÓN**

Para uso exclusivo del INS:

Lote del frotis: \_\_\_\_\_

Fecha de envío: \_\_\_\_\_

Fecha de recepción de los resultados: \_\_\_\_\_

Laboratorio evaluado: \_\_\_\_\_

Fecha de recepción de los paneles en su laboratorio: \_\_\_\_\_

Fecha de entrega de resultados al INS: \_\_\_\_\_

Nombre del técnico evaluado: \_\_\_\_\_

Frotis	Resultado	Reservado para INS		
		Resultado esperado	Tipo de error	Puntaje

**Retroinformación**

Puntaje total:			Aceptado/rechazado:	
FPE	FNE	FPB	FNB	EC

**Formulario 4. INFORME DE CONTROL POR ENVÍO DE PANELES DE FROTIS DE VARIOS  
 LABORATORIOS EVALUADOS**

Distrito o zona: \_\_\_\_\_  
 Supervisor: \_\_\_\_\_  
 Panel de frotis: \_\_\_\_\_  
 Laboratorio supervisor: \_\_\_\_\_

Laboratorio local, intermedio o regional	Volumen anual	TFP	Puntaje del control por panel de frotis	FNE	FPE	FNB	FPB	EC	Total errores
Promedio de los lab. evaluados									

**Formulario 5 : REGISTRO DE EVALUACIÓN DE LA RELECTURA DOBLE CIEGO**

ESTABLECIMIENTO DE SALUD:

DISA / DIRESA:

Referencia:

Fecha de recepción:

Período de la Colecta:

1er Evaluador:

2do Evaluador:

Laboratorio Local		Resultados de Evaluador		Calidad del Extendido				Calidad de Coloración	
N° Lámina	Resultado	Adecuado	No H	Deficiente	Fino	Gruoso	Tamaño	Bueno	Deficiente

Tamaño: A = Adecuado  
NA= No adecuado

### Formulario 6 : INFORME DE RESULTADOS DE RELECTURA DE BACILOSCOPIAS DOBLE CIEGO

ESTABLECIMIENTO DE SALUD:

DISA / DIRESA:

Referencia:

Fecha de recepción:

Período de la Colecta:

1er Controlador:

2do Controlador:

Resultados del laboratorio evaluado	Resultados del laboratorio evaluador					Total
	1-9 BAAR	1+	2+	3+		
Negativo						
1-9 BAAR						
1+						
2+						
3+						
Total						


Resumen de Errores identificados			
Errores mayores		Errores menores	
FPE	FNE	FPB	FNB EC
Total de Errores mayores:		Total de Errores Menores:	

FPE= Falso Positivo Elevado, FNE= Falso Negativo elevado, FPB= Falso positivo bajo,

FNB= Falso negativo bajo, EC= Error de cuantificación

OBJETIVO ALCANZADO: SI..... NO.....

RECOMENDACIONES: .....

	<b>INFORME</b>				FOR-001 Informe N° 001-11			
	<b>Formulario 7. INFORME DE CALIDAD TÉCNICA DE BACILOSCOPIAS</b>				Edición N° 01			
					Página 01 de 01			
<b>DATOS GENERALES</b>								
Código de ingreso:								
Establecimiento remitente:								
DIRESA/DISA:								
N° de láminas recibidas:								
Fecha de recepción INS:								
Conservación de láminas:								
<b>CONTROL DE CALIDAD DE BACILOSCOPIAS</b>								
<b>B. CALIDAD DEL EXTENDIDO Y COLORACIÓN DE LAMINAS</b>								
<b>Total de láminas</b>	<b>Calidad del extendido</b>							
	Bueno		Grueso		Fino		No homogéneo	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
<b>Total de láminas</b>	<b>Calidad de la coloración</b>				<b>Criterios de evaluación</b>			
	Bueno		Deficiente					
	N°	%	N°	%				
				75 - 100 % BUENO				
				60 - 74 REGULAR				
				< 60 DEFICIENTE				
<b>COMENTARIOS</b>								
<b>RECOMENDACIONES</b>								
<b>CONFORMIDAD DE LA EVALUACIÓN</b>								
Procesador:				Coordinador Laboratorio:				



## Formulario 8: INFORME DE RESULTADOS DE RELECTURA A LOS LABORATORIOS DE LA RED POR EL LABORATORIO SUPERVISOR DEL C.E. ....

DISA o DIRESA \_\_\_\_\_  
 ESTABLECIMIENTO DE SALUD \_\_\_\_\_  
 SUPERVISOR DE NIVEL INTERMEDIO \_\_\_\_\_  
 PERIODO DE LA COLECTA \_\_\_\_\_  
 LABORATORIO SUPERVISOR DISA/DIRESA \_\_\_\_\_

Lab. Local	Volumen anual de trabajo	TP	Nº FROTIS EVALUADO	FNE	FPE	FNB	FPB	EC	TOTAL DE ERRORES
PROMEDIO DE LA DISA O DIRES									



Este documento se terminó de imprimir  
en los talleres gráficos de AGL gráfica color SRL  
Pasaje Monte Eucalipto 140-Santiago de Surco  
Telf.: (511) 242-7199  
2012

.

ISBN: 978-612-310-005-6



Instituto Nacional de Salud  
Jirón Cápac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú  
Teléfonos: (0511) 617-6200 Fax: (0511) 617-6244  
Correo electrónico: [postmaster@ins.gob.pe](mailto:postmaster@ins.gob.pe)  
Página web: [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe)

