

# Laboratorio de Referencia de TUBERCULOSIS

Hospital Avellaneda – Catamarca 2000 – 3er piso – E-mail: labtbctucuman@gmail.com  
–Teléfono: 4533700 interno 308

## DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS

Bioq. Brestovisky Liliana  
Téc. Rearte Antonio

Bioq. Graciela Bichara  
**Jefa de laboratorio**

Bioq. Barreiro Ana Gabriela  
Téc. Rocha Ivana

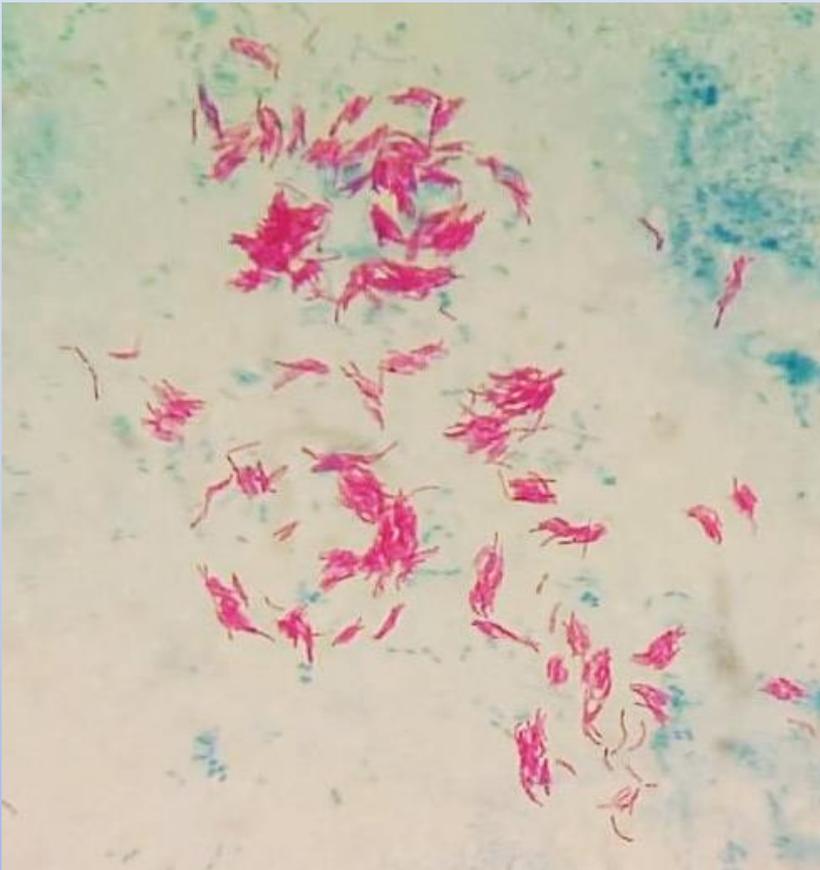
# TUBERCULOSIS

## CONTEXTO



- Enfermedad infecto-contagiosa, usualmente curable ocasionada por bacterias del **Complejo *Mycobacterium Tuberculosis*** («*Bacilo de Koch*»).
- Un cuarto de la población mundial está infectada con el bacilo, y 11 millones de personas se infectan cada año.
- En 2022 fue la 2da causa de muerte provocada por un solo agente etiológico (luego del SARS-CoV-2).
- En Argentina, mayor tasa de infección en hombres jóvenes, y 65% de muertes en personas de edad laboral (15-64 años).
- Diagnosticada y tratada oportunamente puede reducirse la probabilidad de muerte en un 85%.

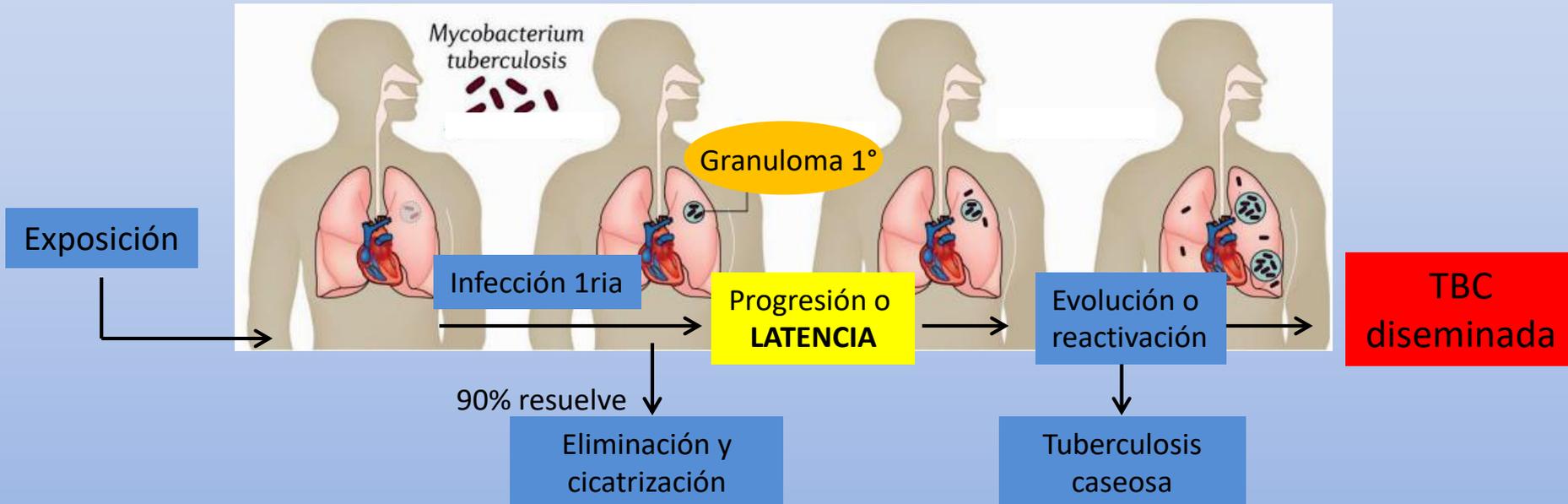
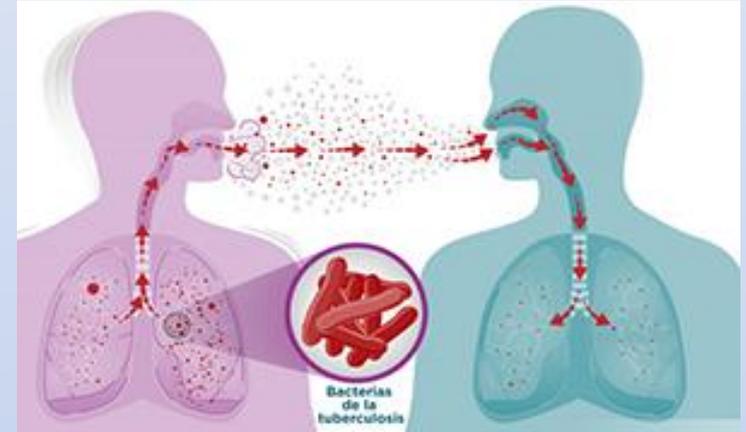
# Características generales del género *Mycobacterium*



- Bacilos **pequeños y livianos**.
- Inmóviles.
- **ACIDO ALCOHOL RESISTENTES (BAAR)**.
- **CRECIMIENTO LENTO** (60 días)
- T° óptima (corporal) 37°C
- Sensibles a la luz, pH ácido, formol, etc.
- Pueden permanecer en el organismo en forma **LATENTE**.

# Clasificación clínica

- Según presentación: **TB PULMONAR (80-85%)**  
y **EXTRAPULMONAR (15-20%)**.
- Transmisión: principalmente aerógena (toser, hablar, estornudar, etc.).



# Síntomas

## TB Pulmonar

- Tos con expectoración >15 días → «*Sintomático Respiratorio*»



Debe ser estudiado y descartar TB pulmonar.

## TB Extrapulmonar

- Síntomas constitucionales (fiebre, pérdida de peso, etc.), más manifestaciones propias del órgano/sitio afectado.
- Más comunes: formas ganglionares, pleurales, meníngeas, pericárdicas >> osteoarticulares, abdominales, genitourinarias.

# Tipos de muestras

## Pulmonares

- Esputo bronquial/inducido
- Lavado Bronquial/mini BAL
- Lavado Gástrico
- Aspirados y cepillado  
Bronquial o Traqueal
- Biopsia transbronquial

## Extrapulmonares

- Orina
- Sangre
- LCR
- Líquidos: Pleural, ascítico  
pericárdico, articular
- Pus
- Medula Ósea
- Biopsias en general

# Toma, conservación y transporte

- **ESPUTO**



- ✓ Principal muestra en pacientes adultos SR sospechosos de TB pulmonar.
- ✓ Se solicitan dos muestras: Una al momento de la consulta y otra el día siguiente.
- ✓ Importante dar buenas indicaciones para su recolección y realizarla en un lugar ventilado.

## **Conservación**

Si las muestras de esputo no van a ser procesadas en el día, es aconsejable conservarlas en el refrigerador preferentemente dentro de una caja de plástico. Hasta 5 días.

- **BAL o mini BAL:**

- ✓ La obtención de la muestra debe ser realizada por un médico.
- ✓ Debe ser colocado en recipiente adecuado de plástico estéril y enviar rápidamente al laboratorio o **conservar** refrigerada no más de 24 horas.



- **Lavado gástrico:**

- ✓ Al menos 3 muestras.
- ✓ Debe ser cultivado durante las 4 h siguientes a su obtención, caso contrario neutralizar, agregando igual volumen de solución de  $\text{NaHCO}_3$  al 8% y ser conservado en heladera por no más de 24 horas.



# Muestras extrapulmonares-1

- **Orina:**

- ✓ Previa higiene de la zona (como orina para urocultivo).
- ✓ Mínimo 3 máximo 6 muestras.
- ✓ Debe ser procesada inmediatamente. Si se debe transportar hasta otro laboratorio, enviar el sedimento (15' a 3.000 g), neutralizado con 1 mg NaHCO<sub>3</sub> conservado entre 4 y 9 °C por no más de 12 h hasta el momento del envío.

- **Sangre:**

- ✓ Condiciones de asepsia para cualquier toma de muestra se sangre.
- ✓ Dos muestras de 2,5 mL a 5 mL de sangre venosa en días consecutivos, jeringa con heparina. Transferir a tubo seco estéril con tapa a rosca hermética.
- ✓ De no poder enviar de inmediato, transferir a frasco con BHI e incubar 37°C hasta realizar envío.

# Muestras extrapulmonares-2

- LCR:

- ✓ Envase estéril de 10-15 ml de capacidad y con tapa a rosca de cierre hermético.
- ✓ Volumen mínimo de muestra 0,5 ml. No necesario uso anticoagulante.
- ✓ Enviar material inmediatamente o conservar a 4°C por no más de 12 horas.

- Líquido pleural, ascítico, pericárdico y otros:

- ✓ Envase estéril de capacidad adecuada para el volumen a recoger (mínimo 0,5 mL), con tapa a rosca de cierre hermético.
- ✓ Puede agregarse tres gotas de citrato de sodio al 10% o EDTA por cada 10 ml de muestra.
- ✓ Enviar material inmediatamente o conservar a 4°C por no más de 12 horas.

# Muestras extrapulmonares-3

- **Biopsias/tejidos:**

- ✓ Envase estéril, de tamaño adecuado para la muestra.
- ✓ NO AGREGAR FORMOL, 1-2 mL de SF basta para evitar desecación.
- ✓ Enviar inmediatamente o conservar a 4°C por no más de 12 horas.

- **Pus**

- ✓ Envase estéril de capacidad adecuada para el volumen a recoger.
- ✓ NUNCA ENVIAR JERINGAS CON AGUJAS.
- ✓ Procesar el material inmediatamente o conservar a 4°C por no más de 12 horas.

# Diagnóstico de TB

Es aceptado de dos formas:

1. Sin confirmación bacteriológica – Clínica + imágenes + estudios de contacto y complementarios (Ej: PPD).

2. Confirmación bacteriológica

## LABORATORIO

1. Baciloscopía
2. Cultivo
3. Métodos moleculares rápidos

# Diagnóstico de laboratorio

## 1. Baciloscopía (Bk)

Sensibilidad: 50-80%      Especificidad: 100%

❖ Técnica sencilla, recomendada para TODOS los niveles de laboratorio.

Coloración de Z-N  
pone en evidencia  
los bacilos en la  
muestra

INTERPRETACIÓN



- Negativo: ningún bacilo en 100 campos
- Positiva (+): menos de 1 bacilo como promedio en 100 campos
- Positiva (++) : 1-10 bacilos como promedio en 50 campos
- Positiva (+++) : más de 10 bacilos como promedio en 20 campos



Microscopía es fundamental para monitoreo de respuesta a tratamiento.

# Diagnóstico de laboratorio

## 2. Cultivo

### GOLD STANDARD

- Permite establecer diagnóstico de certeza
- A partir de él se evalúa viabilidad de los bacilos y pueden realizarse pruebas de ID. de especie, pruebas de sensibilidad y control de tratamiento.



### Consideraciones en el Cultivo de Mycobacterias

#### Ventajas

- Dx de certeza
- + Sensibilidad que Bk (10 Bacilos/ml)

#### Desventajas

- Crecimiento LENTO (3 a 8 semanas)
- Menos accesible y más caro que Bk

# Métodos de cultivo en medio sólido

Técnica de PETROFF  
MODIFICADO y siembra en  
Löwenstein-Jensen

y

Técnica de KUDOH OGAWA

- Todas las muestras.
  - Proceso más largo, costoso y de mayor riesgo.
- 
- Rápido y sencillo
  - No requiere centrifugación.
  - Sólo para muestras resp.

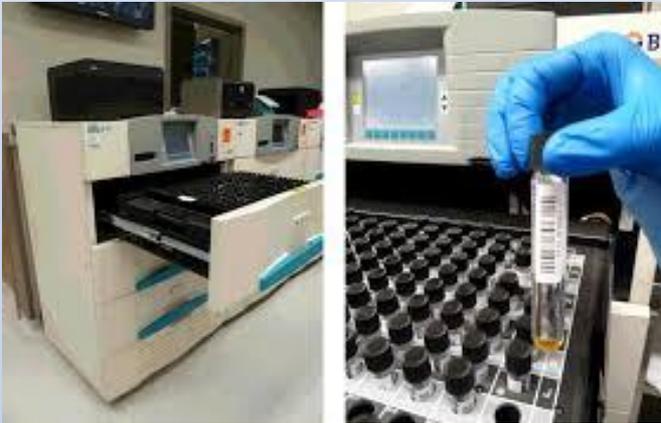


RESULTADOS

Informe	Si se observó
CONTAMINADO	Todos los tubos contaminados.
NEGATIVO	Sin desarrollo luego de 8 semanas de incubación.
N° exacto de colonias	Entre 1 y 19 colonias en total de medios sembrados.
POSITIVO +	20 a 100 colonias.
POSITIVO ++	Más de 100 colonias separadas.
POSITIVO +++	Más de 100 colonias confluentes.

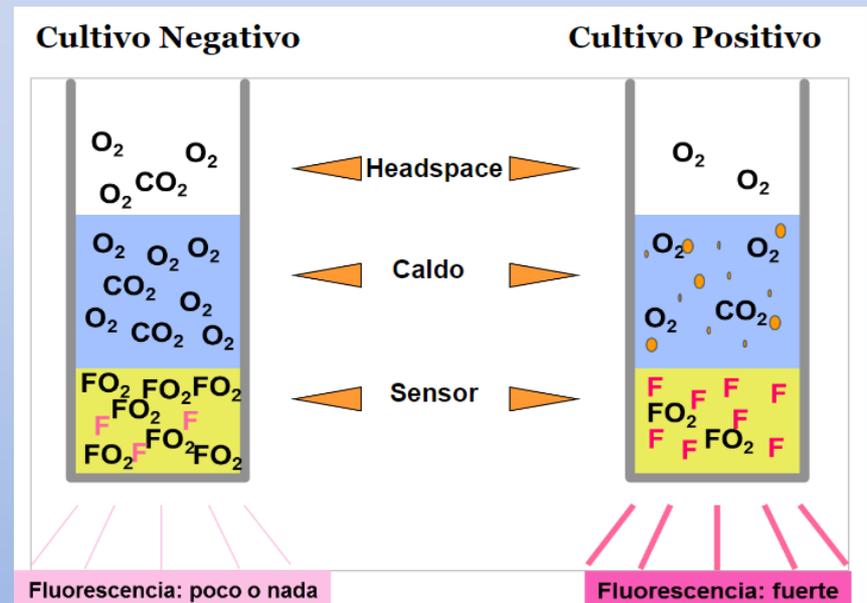
# Método de cultivo líquido-automatizado

## BACTEC-MGIT



- Todas las muestras menos sangre y MO.
- Resultados en 5-42 días.
- Pruebas de sensibilidad a SIRE.

Fundamento: Tecnología  
fotométrica avanzada que detecta  
el consumo de O<sub>2</sub>.



# BACTEC-MGIT 960



- *Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)*
- Un tubo líquido por cada muestra remitida.
- Al obtener un (+) debe comprobarse que sea BAAR a través de la coloración de Z-N.

- Aporta un 10% más de sensibilidad en comparación con el cultivo en medio sólido.
- Lectura automática cada 60'.



# ¿Cuándo pedir cultivo para BAAR?

- Todo paciente inmunosuprimido
- Todo paciente pediátrico
- Toda muestra extrapulmonar
- Paciente sospechoso con 2 BK negativas previas
- Paciente con sospecha de TB fármaco-resistente (grupos de riesgo).
- Paciente que finaliza 2do mes de tratamiento y aún tiene BK (+)
- Pacientes con BK (-) que convierten a (+) en cualquier momento del tratamiento.

EN TODOS LOS CASOS LA MUESTRA DEBE SER REMITIDA AL LABORATORIO DE REFERENCIA DE TUBERCULOSIS (HOSP. AVELLANEDA 3ER PISO) E IR ACOMPAÑADA DE LA RESPECTIVA FICHA DE SOLICITUD DE CULTIVO.

# Ficha de solicitud cultivo para BAAR

 <p>SIPROSA</p>	 <p>Dirección General de Programa Integrado de Salud</p>	<b>LABORATORIO DE REFERENCIA DE TUBERCULOSIS</b>	
<b>Hospital Avellaneda – Catamarca nº2000 – 3er piso – E-mail: labtbctucuman@gmail.com</b>			
<b><u>SOLICITUD DE CULTIVO DE BAAR</u></b>			
Apellido y Nombre del paciente: .....			
DNI nº:..... Servicio que deriva:.....			
Ambulatorio..... Internado:..... Sala:..... Cama:.....			
Tipo de muestra:..... Nº de muestras: ..... Fecha toma de muestra:.....			
En tratamiento: No..... Si..... Mes de tratamiento:.....			
Solicito prueba de sensibilidad por:			
<input type="checkbox"/> Retratamiento <input type="checkbox"/> Abandono <input type="checkbox"/> Fracaso <input type="checkbox"/> Recaída			
Enfermedades asociadas:			
<input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Inmunosupresión por: .....			
<input type="checkbox"/> Otra/s:.....			
Otros:			
<input type="checkbox"/> Personal de salud <input type="checkbox"/> Privado de libertad <input type="checkbox"/> Contacto de paciente resistente a tratamiento con drogas antituberculosas <input type="checkbox"/> Adicto a alcohol/drogas			
Firma y sello del solicitante:.....			

# Métodos moleculares de diagnóstico rápido

Utilizan biología molecular (PCR, sondas, etc) para detección directa y cualitativa del ADN de la bacteria y aportar información sobre resistencia a algunos fármacos.

Ej:

- **GeneXpert MTB/RIF:** Detecta *Complejo Mycobacterium Tuberculosis* + Resistencia a Rifampicina. Resultado en 2 horas.
- **Plataforma BD-MAX MDR-TB:** Detecta *Complejo Mycobacterium Tuberculosis* + Resistencia a Rifampicina e Isoniazida. Resultado en 4 horas pero 24 muestras al simultáneo.
- **Abbot Real Time MTB y Abbot Real Time MTB Resistance.** CMT + Res. RIF e INH casi 9 horas

# GeneXpert MTB/RIF

- Prueba de amplificación del ácido nucleico bacteriano (PCR real time) totalmente automatizada que emplea un cartucho para diagnosticar la tuberculosis y la resistencia a la rifampicina.



**AL DETECTAR MATERIAL GENÉTICO, NO ES ÚTIL PARA CONTROL DE TRATAMIENTO**  
**(NO EVALÚA VIABILIDAD DEL BACILO)**

- Se recomienda no utilizar métodos moleculares como diagnóstico en pacientes hasta haber pasado al menos 5 años de tratamiento.
- Tucumán no cuenta con equipo propio para GeneXpert, todas las muestras son derivadas a Salta para resolver.

# Ficha de solicitud prueba Gene-Xpert

**PONGAMOS FIN A LA TUBERCULOSIS**

**TODA PERSONA CON ALTA SOSPECHA DE TB QUE PERTENEZCA A LOS GRUPOS PRIORIZADOS DEBE TENER UNA PRUEBA DE XPERT MTB/RIF COMO PRIMERA PRUEBA DIAGNÓSTICA**

- |   |   |
|---|---|
| 1) Adultos con sospecha de TB-MDR                           | 8) Pacientes con infección por VIH y otras inmunodeficiencias |
| 2) Retratamiento  | 9) Personas que viven con diabetes                            |
| 3) Casos nuevos, BK+ después del segundo mes de tratamiento | 10) Embarazadas   |
| 4) Contactos de TB-MDR                                      | 11) Niños con sospecha de TB y TB-MDR                         |
| 5) Provenientes de áreas endémicas de TB-MDR                | 12) Pacientes con sospecha de Tuberculosis meningea           |
| 6) Profesionales de la salud                                |   |
| 7) Personas privadas de libertad                            |   |

**Prueba molecular capaz de detectar simultáneamente TB y resistencia a rifampicina en una única prueba en 2 horas.**



**Contáctese con su referente para derivar la muestra para la prueba XPERT MTB/RIF.**

**SALVEMOS VIDAS !!**



## SOLICITUD DE ESTUDIO DE PRUEBA DIAGNOSTICA RAPIDA PARA TUBERCULOSIS

### DATOS INSTITUCION DERIVANTE

Institución: .....  
 Profesional: .....  
 Servicio: .....  
 Dirección Postal: .....  
 Teléfono: ..... Fax: ..... Correo electrónico: .....

### DATOS DEL PACIENTE

Apellido y Nombres: ..... H. C. N°: .....  
 Documento: ..... Fecha de nacimiento: ..... / ..... / ..... Edad: ..... Género: F  M   
 Nacionalidad: ..... Domicilio: .....  
 Localidad: ..... Partido/Dpto.: ..... Provincia: .....  
 País de Residencia anterior: ..... Teléfono: .....

### MUESTRA REMITIDA

Espito  Lavado Gástrico  LCR   
 Ganglio  Otros tejidos  indicar:.....

Fecha de toma de muestra: ...../...../.....

Resultado de la baciloscopia: .....

Cultivo realizado NO  SI  Laboratorio donde fue cultivada:.....

### ANTECEDENTES DEL PACIENTE

- Enfermedad extrapulmonar
- Tratamiento previo p/ tuberculosis: NO  SI  Si es retratamiento indicar:
- Fracaso
  - Recuperado a la pérdida de seguimiento
  - Recaída
- Fecha de finalización del último tratamiento:...../...../.....
- Contacto de paciente con TB resistente a rifampicina /multirresistente
- Inmunocomprometido
- Niño
- Otro:  Describir: .....

Fecha: ..... / ..... / ..... Solicitante del estudio: ..... Firma: .....

# Tucumán



«INER Dr.  
Emilio  
CONI»  
Santa Fé

H. Sr. Del  
Milagro  
Salta

Laboratorio de  
Salud Pública  
H.N.K.

H. Pte. Nicolás Avellaneda  
II nivel de atención

**Laboratorio de Referencia de TUBERCULOSIS**

H. Padilla

H.C.Salud

I. De Maternidad

H. Del Niño J.

H. Concepción

H. Del interior

CAPS

CAPS

CAPS

CAPS

CAPS

CAPS

Recol. muestras

Recol. muestras

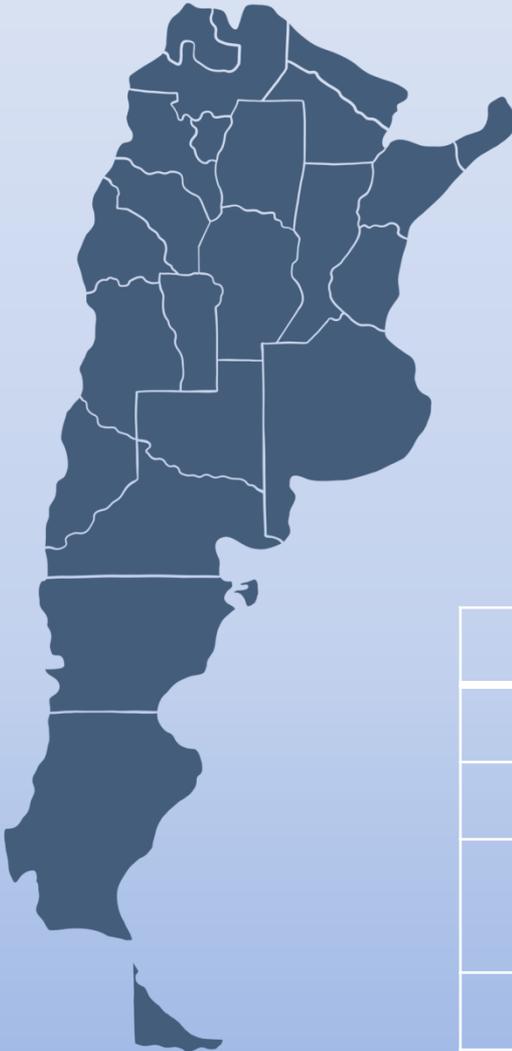
Recol. muestras

Recol. muestras

Recol. muestras

Recol. muestras

# Red Nacional de Laboratorios de TB



Estrategia **Fin de la TB** a nivel laboratorial se busca:

- Aumentar el acceso a pruebas rápidas de dx de TB.
- Alcanzar acceso universal a pruebas de sensibilidad.
- Fortalecer la calidad de los servicios de laboratorio.

**ARGENTINA** cuenta con:

<b>592</b>	Laboratorios que realican BK
<b>135</b>	Laboratorios que realizan cultivo (108 c.s y 27 c.l)
<b>19</b>	Que realizan pruebas de sensibilidad fenotípica
<b>19</b>	Equipos de pruebas rápidas de detección molecular (GeneXpert)
<b>13</b>	Plataformas (3 Abbot real time y 10 BD-MAX )

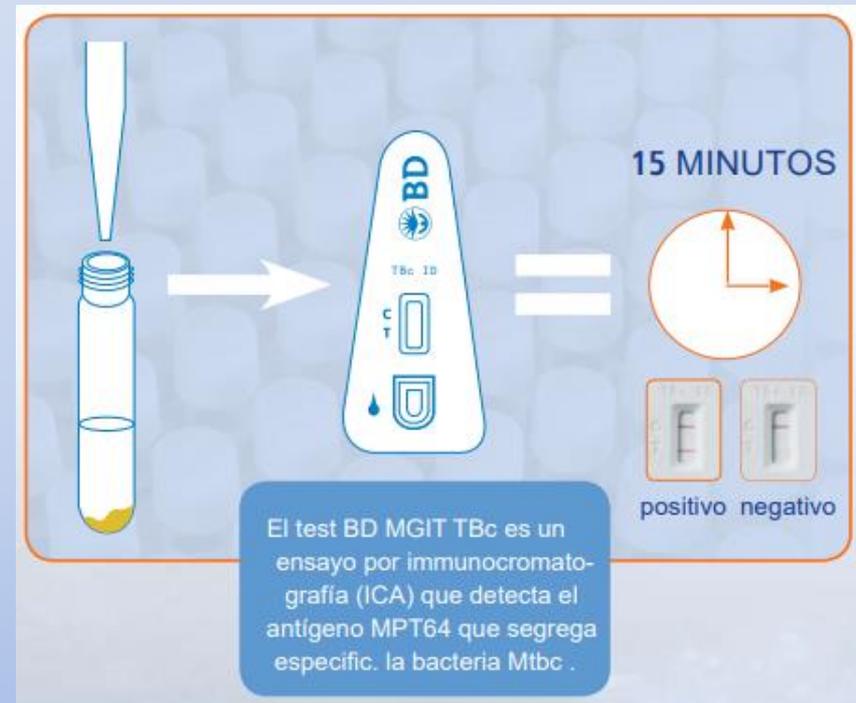
# Funciones según niveles y complejidad

<p><b>Nivel periférico</b> (comunidad)</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Recolección de muestras y derivación</li><li>• Baciloscopías, GeneXpert (en algunos casos)</li><li>• Referencia de muestras tamizadas</li><li>• Programa de evaluación externa de calidad (EEC)</li></ul>
<p><b>Nivel intermedio</b> (provincial o departamental)</p> 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hospitales grandes o regionales</li><li>• Búsqueda activa de casos</li><li>• Pruebas de diagnóstico molecular rápido</li><li>• Cultivo e identificación</li><li>• Suministros de materiales y reactivos a lab. de red periférica</li><li>• Derivar cultivos a lab. de referencia para p.s</li></ul>
<p><b>Nivel central</b> (Referencia)</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vigilancia y monitoreo de la red</li><li>• Métodos de referencia</li><li>• Identificación de M. tuberculosis y atípicas</li><li>• Pruebas de sensibilidad de 1era y 2da línea</li><li>• Secuenciación</li><li>• Validación de nuevos métodos diagnósticos, y pruebas especiales para casos complejos.</li></ul>

# Pruebas de identificación

Inmunoensayo cromatográfico para detección cualitativa de Ag MPT64 de *M. tuberculosis complex* (MTBC).

- Si resultado es MNT, se derivada para ID en «INER E. Coni» (Santa Fé), donde además se le realiza el correspondiente tisisoantibiograma.
- Tucumán no realiza pruebas de sensibilidad porque no cuenta con la estructura de bioseguridad adecuada.



# Ficha de solicitud prueba ID y sensibilidad

## FORMULARIO PARA LA DERIVACIÓN DE UN AISLAMIENTO O MUESTRA AL LABORATORIO DE REFERENCIA PARA IDENTIFICACIÓN Y/O PRUEBA DE SENSIBILIDAD

La información requerida en este formulario es la mínima que precisa el laboratorio de referencia para sustentar la elección de los estudios y métodos a aplicar para comunicarse con la institución que deriva el estudio. La falta de información puede derivar en que no se utilicen los recursos diagnósticos adecuados para el caso en cuestión y en que no se transmitan oportunamente los resultados.

Completar los espacios, marcar con una cruz la opción que corresponda o tachar la que no corresponda

Institución: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni"

Servicio: Diagnóstico y Referencia

Dirección Postal: 3000

Teléfono: 0342 4892525 int 3 Fax: 0342 4892827

E-mail: redtuberculosisinerconi@anlis.gov.ar

### MATERIAL

#### ENVIADO

- Muestra de
- Aislamiento (cultivo) desarrollado a partir de
  - Espudo
  - Orina
  - Biopsia de .....
  - Lavado bronquial/broncoalveolar
  - Líquido cefalorraquídeo
  - Sangre
  - Biopsia pleural
  - Ganglio
  - Otros

El resultado de la baciloscopia de la muestra fue.....  
 El cultivo creció en medio ..... a los ..... días de incubación, con un desarrollo ( número de colonias) de ..... y tenía / no tenía pigmentación.  
 El aislamiento fue identificado como .....  
 Se envía el material para.....

#### DATOS DEL PACIENTE

Apellido:.....  
 Nombre:.....  
 Edad: ..... Sexo: ..... Ocupación: .....  
 DNI:.....  
 Identificación de origen:.....  
 Número de protocolo:.....

Lugar de residencia actual .....  
 anterior:.....

Tuvo EXPOSICIÓN A LA TUBERCULOSIS en .....

En CONTACTO con.....

Se le identificó el siguiente FACTOR DE RIESGO PARA HIV

Serología para HIV:

- Positiva
- Negativa
- No realizada
- Se desconoce

Conteo de linfocitos totales:..... CD4:.....

ENFERMEDADES ASOCIADAS:

- Diabetes
- Inmunosupresión por:.....
- Enfermedad maligna
- Otra:.....

Tuvo INTERNACIONES REITERADAS EN LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES

.....

TIENE ANTECEDENTES DE

- Enfermedad pulmonar crónica ¿Cuál? .....
- Tratamiento con drogas antituberculosas y de:
  - Abandono de tratamiento
  - Cumplimiento irregular del tratamiento
  - Haber recibido algún esquema irregular de drogas

El TRATAMIENTO ACTUAL fue iniciado el mes de ..... de .....

Se le administró las siguientes drogas .....

RESULTADOS DE ESTUDIOS BACTERIOLÓGICOS ANTERIORES					
FECHA	MUESTRA ESTUDIADA	BACILOSCOPIA	CULTIVO	AISLAMIENTO	
				IDENTIFICADO COMO	SENSIBLE A

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

Firma y aclaración:.....

# Pruebas de sensibilidad

Indispensables para establecer la correcta terapéutica y evitar el aumento de casos de TB-MDR

Existen dos tipos de pruebas de sensibilidad, y es recomendable hacer ambas

## GENOTÍPICAS

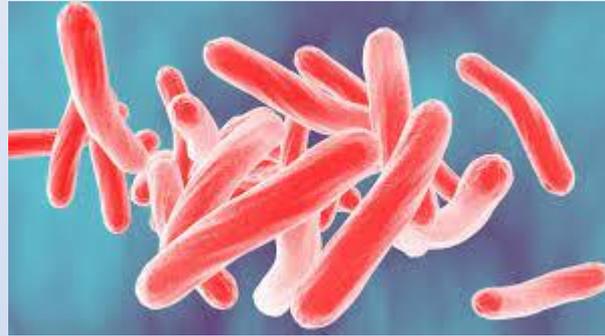
- XPERT MTB/RIF Ultra
- XPERT MTB/XDR
- Plataformas moleculares (BD, Abbot, Cobas, Fluorotype).
- Ensayos de sonda en línea (LPA)
- Prueba TB LAMP
- LAM ICL en orina
- Secuenciamiento genómico

## FENOTÍPICAS

- SIRE en MGIT
- Proporciones múltiples en medio de LJ (método de Canetti, Rist y Grosset).
- Ensayo de nitrato reductasa.

# Conclusiones

- TB todavía representa una enfermedad con gran incidencia a nivel mundial, sobre todo en hombres jóvenes.
- Asociada a VIH, tiene una mayor tasa de letalidad, por lo que es fundamental que todo paciente diagnosticado con TB conozca su estado de VIH.
- Si bien no es indispensable para diagnóstico, la confirmación bacteriológica permite instalar una terapéutica adecuada y evitar fracasos en el tratamiento o aparición de cepas resistentes (gran problemática de este siglo).
- Es fundamental el diálogo entre médico-bioquímico para que se cumpla lo anterior.
- TB es una enfermedad de notificación obligatoria (Ley 15.465), el correcto registro permite conocer nuestro estado de situación y fortalecer futuras medidas de acción.



# Laboratorio de Referencia de TUBERCULOSIS

Hospital Avellaneda – Catamarca 2000 – 3er piso – E-mail: [labtbctucuman@gmail.com](mailto:labtbctucuman@gmail.com) – Teléfono: 4533700  
interno 308

**MUCHAS GRACIAS**

Bioq. Brestovisky Liliana  
Téc. Rearte Antonio

Bioq. Graciela Bichara  
**Jefa de laboratorio**

Bioq. Barreiro Ana Gabriela  
Téc. Rocha Ivana