



# Procedimiento para efectuar una baciloscopia para la lepra

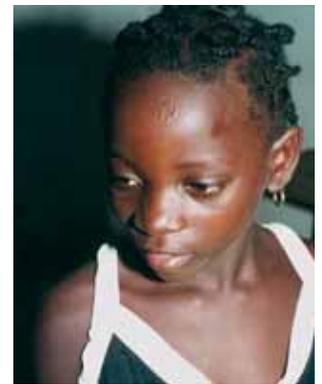
## ILEP Guía de aprendizaje numero tres

### ¿Qué es una baciloscopia?

Una baciloscopia es una técnica en la que se obtiene una muestra mediante un pequeño corte en la piel y que se colorea para poder identificar bacilos de *M.leprae*.

### ¿Porque se hacen baciloscopias?

- Para confirmar un diagnostico de lepra multibacilar en un caso sospechoso.
- Para ayudar a confirmar una recidiva en un paciente multibacilar ya tratado.
- Para ayudar a clasificar nuevos pacientes.



### ¿Quien puede hacer una baciloscopia?

Cualquier persona entrenada y autorizada para ello.

**No olvidar:** la baciloscopia es una técnica invasiva. Hay que lavarse las manos, llevar guantes y utilizar material estéril y una cuchilla nueva para cada paciente. Solo se hacen cuando son necesarias.

Principales autores: Dr Guido Groenen, Dr Paul Saunderson y Professor Baohong Ji en representación de la Comisión Medico-Social ILEP.

Ilustraciones: Brent Hawkins, de los originales de Sandy Patience.

Fotografías: Ida Baarsen 1i, iv; GLRA 1ii; TLMI 1iii; Geoff Crawford 2; Linda Lehman 3; WHO/TDR 5i, ii.

© International Federation of Anti-Leprosy Associations (ILEP), 2003

[ilep@ilep.org.uk](mailto:ilep@ilep.org.uk)

## Preparativos para la baciloscopia

### Equipo y materiales



guantes



gasas y alcohol



bisturí y  
cuchillas  
nuevas



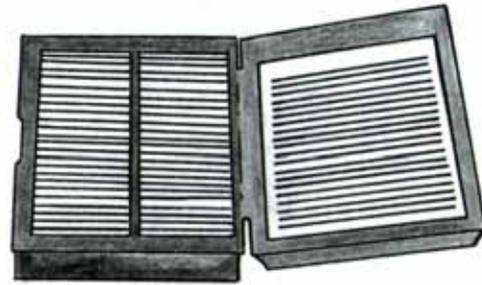
apósitos



Recipiente  
para  
cuchillas  
usadas



lámpara  
de alcohol



portaobjetos nuevos con caja

Poner todo el material necesario sobre una mesa limpia.

También se necesita un marcador y la hoja de petición de la prueba.



### Explicación para el paciente

Se pide al paciente que se siente y relaje. Hay que explicarle lo que se va hacer y con que fin. Una vez obtenido su permiso se rellena la hoja de petición de la prueba.

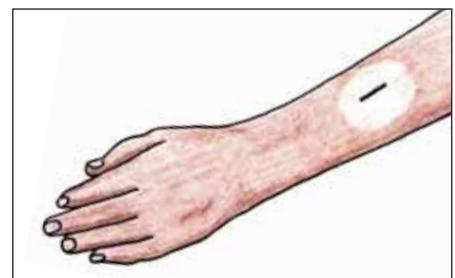
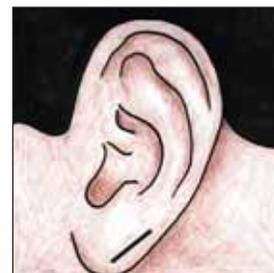
### Sitios para examinar

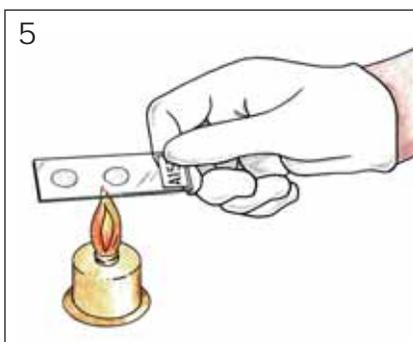
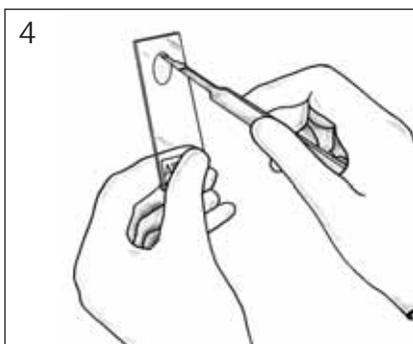
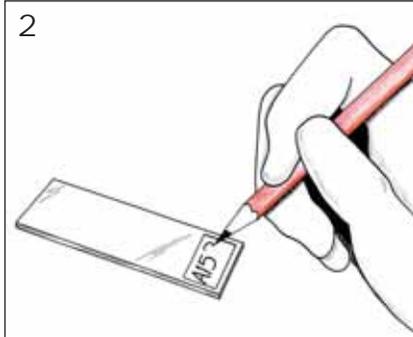
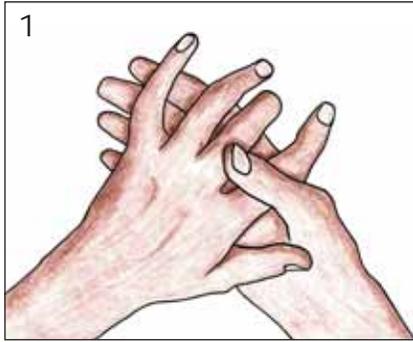
Se deben tomar muestras de solo dos sitios:

1. Un lóbulo de la oreja.
2. Una lesión. Hay que seleccionar las lesiones aparentemente mas activas pero no en la cara. Las mas activas son las sobresalientes y rojizas. Las muestras se toman en la parte mas activa de la lesión (generalmente el borde interno).

Si no hay una lesión activa, se toma la segunda muestra del lóbulo de la otra oreja o de un sitio donde anteriormente había una lesión activa.

Tradicionalmente, muchos programas aconsejaban tomar entre cuatro y seis muestras pero actualmente se consideran dos sitios como suficientes en la mayoría de casos.





## Técnica para la toma de muestras

- Hay que lavarse las manos (1) y ponerse guantes.
- Utilizar un portaobjetos nuevo. Con el marcador anotar el numero de identificación (NI) del paciente en el extremo inferior del portaobjetos (2). Este numero es el mismo del impreso de petición.
- Frotar la piel del sitio de toma con un poco de algodón humedecido en alcohol. Dejar secar.
- Encender la lámpara de alcohol.
- Colocar una cuchilla nueva en el bisturí. Si se pone sobre la mesa, procurar que la hoja no toque la mesa.
- Formar un pliegue cutaneo entre los dedos índice y pulgar y mantenga esta posición hasta que la piel se vuelva pálida(sin sangre).
- Hacer una incisión de 5mm. de largo y 2mm. de profundidad (3). Seguir manteniendo la presión. Si sangra limpiar la incisión con algodón.
- Girar el bisturí 90° hasta que forme un ángulo recto con la incisión. Raspar una vez o dos la incisión para obtener una cantidad suficiente de muestra. No debe haber sangre en la muestra porque interfiere la tinción y la visualización al microscopio de las muestras.
- Dejar de presionar con los dedos y limpiar si hay sangre con algodón.
- Extender la muestra con la cuchilla plana sobre el portaobjetos en el mismo lado numero NI en forma circular de 8 mm. de diámetro (4).
- Antes de tomar la siguiente muestra, hay que limpiar la cuchilla con algodón humedecido en alcohol y pasarla despacio por la llama del mechero durante 3-4 segundos. Dejar que la cuchilla sin tocar nada se enfríe.
- Repetir los mismos pasos para la segunda muestra. Extenderla al lado pero sin tocar la primera.
- Desechar en un recipiente seguro la cuchilla.
- Curar la herida y agradecerle al paciente su colaboración.
- Dejar los portaobjetos al aire durante 15 minutos sin exposición directa a la luz solar.
- Fijarlas pasando los portaobjetos con la muestra hacia arriba, 3 veces sobre la llama del mechero de alcohol (5). No calentar en exceso. Deben poderse tocar las muestras con las manos.
- Colocar los portaobjetos en la caja y enviar al laboratorio junto a la hoja de petición.

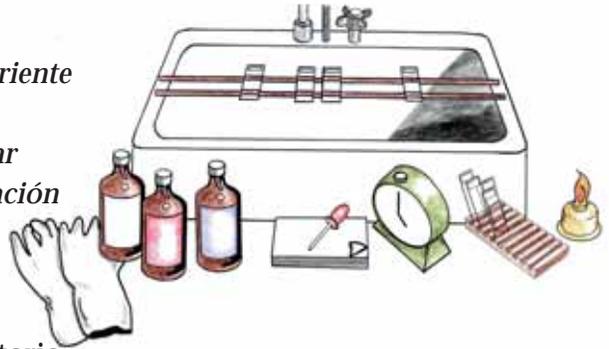
## Como teñir la baciloscopia

Se tiñen las muestras con la tinción Ziehl-Neelsen en caliente. Se emplea carbolfucsina al 1% que lo tiñe todo rojo. Se lava con solución de ácido-alcohol al 1% que decolora todo menos el *M.leprae*. Como contraste se tiñe con azul de metileno 0.2%. Los bacilos de *M.leprae* aparecen como bastoncillos rojos sobre fondo azul.

### Equipo

Una botella de cada reactivo:  
carbolfucsina al 1%  
ácido-alcohol al 1%  
azul de metileno al 0.2%  
lámpara de alcohol  
reloj

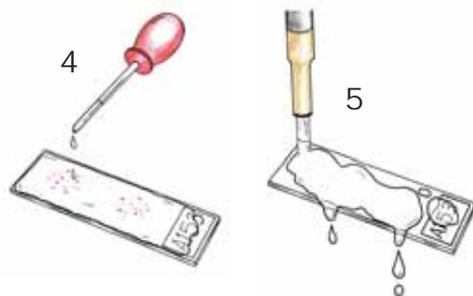
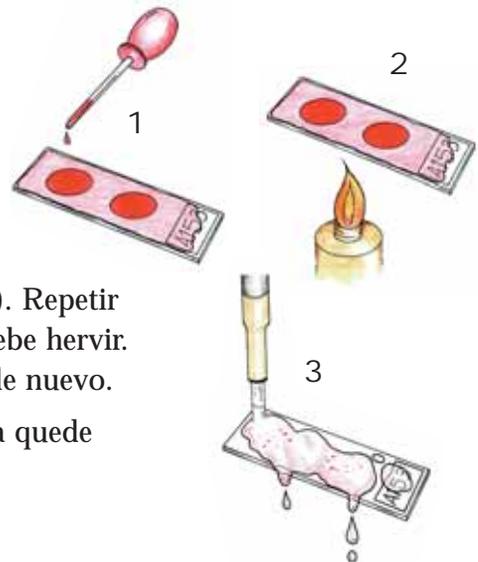
pila con agua corriente  
pipetas  
varillas para agitar  
bandeja de coloración  
toallas de papel  
guantes



- Anotar la muestra en el libro de registros del laboratorio.
- Colocar los portaobjetos con las muestras hacia arriba sobre la bandeja de coloración. Se pueden teñir hasta 10 preparaciones a la vez.

### Coloración

- Antes de teñir, hay que filtrar con papel de filtro, la solución de carbolfucsina al 1%.
- Cubrir el portaobjetos con solución de carbolfucsina al 1% (1).
- Calentar los portaobjetos suavemente sosteniendo la lámpara debajo de ellos hasta que emitan vapor de la carbolfucsina (2). Repetir este proceso tres veces cada 5 minutos. La carbolfucsina no debe hervir. Si se seca la muestra hay que añadir mas solución y calentar de nuevo.
- Lavar suavemente con agua corriente (3) hasta que la muestra quede incolora. La baciloscopia permanece rojo oscuro.

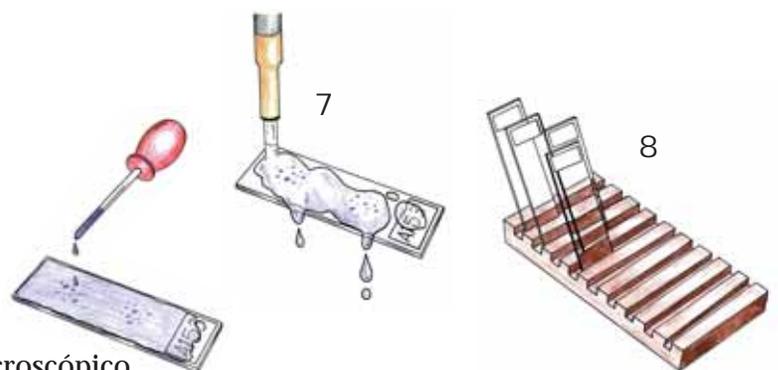


### Decoloración

- Cubrir con ácido-alcohol al 1% durante 10 segundos (4). Otro método consiste en cubrir con ácido sulfúrico al 5% durante 10 minutos.
- Lavar suavemente con agua (5).

### Contraste

- Cubrir con azul de metileno 0.2% durante 1 minuto (6).
- Lavar con agua corriente (7) y dejar secar al aire en posición inclinada con el lado de la muestra hacia abajo (8).
- Las muestras están listas para el examen microscópico.



## Examen microscópico

Se necesita un microscopio con ocular x10 y objetivos de x10 y x100. Se empieza mirando con el objetivo x10.



- Colocar el portaobjetos en el microscopio con las muestras hacia arriba y número NI a la izquierda.
- Enfocar con el objetivo x10.
- Poner una gota de aceite de inmersión sobre la muestra.
- Cambiar el objetivo a x100. La lente tocará el aceite (si es necesario mover el macrométrico hasta que la lente toque el aceite).
- Abrir totalmente el diafragma y elevar al máximo el condensador.
- Enfocar con precisión con el micrométrico.

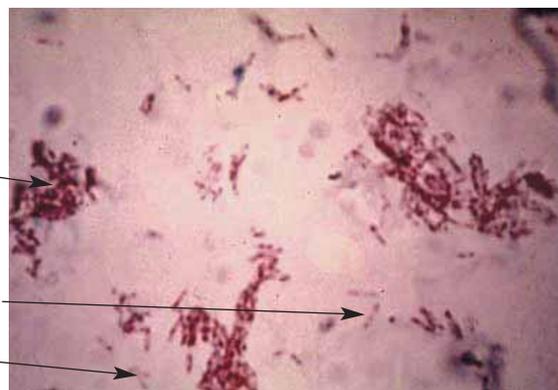


Enteros

Globis

Fragmentados

Granulosos



Hay que detectar bacilos ácido-alcohol resistentes con forma de bastoncillos rojos sobre un fondo azul. Pueden ser rectos o en forma curvado y pueden estar uniformemente coloreados (enteros) o desigualmente coloreados (fragmentados o granulosos). Las agrupaciones de bacilos se denominan globos. Los bacilos enteros sugieren la presencia de organismos viables y se observan en casos nuevos sin tratar o en recidivas.

Después de examinar el primer campo al microscopio se pasa al adyacente. Hay que examinar aproximadamente 100 campos por muestra.

- Si se detectan bacilos ácido-alcohol resistentes hay que cuantificarlos usando la escala del Índice Bacteriológico (IB). Para cada muestra se calcula un IB.
- Anotar el resultado de ambas baciloscopias en el libro de registros.
- Repasar sin frotar con xilenol las muestras.
- Guardar los portaobjetos en una caja para futuros controles de calidad.
- Hay que destruir o desinfectar (hervir y lavar) los portaobjetos para usarlos para otras técnicas de rutina. No deben usarse para otras baciloscopias o exámenes de esputo.
- Dar el resultado a la persona que lo ha solicitado.

Índice Bacteriológico (IB)	
0	0 bacilos en 100 campos
1+	1 - 10 bacilos en 100 campos
2+	1 - 10 bacilos promedio en 10 campos
3+	1 - 10 bacilos promedio en cada campo
4+	0 - 100 bacilos promedio por campo
5+	100 - bacilos promedio campo
6+	> 1000 bacilos promedio campo

Nota: Hay que registrar las 2 muestras de la preparación. En el caso de pacientes positivos, el IB del paciente será el IB promedio de las 2 muestras o el IB resultante mayor.

## Preparación de los reactivos de tinción

### Material necesario para preparar los reactivos

fucsina básica en polvo

alcohol etílico 95%\*

cristales de fenol

ácido clorhídrico (HCl)

azul de metileno en polvo

\*Si no hay se puede utilizar alcohol metílico o alcohol desnaturalizado.

agua corriente

probeta graduada de 1000 ml.

2 jeringas de 10 ml.

tres frascos opacos de 1litro.

balanza

### Preparación

Estas indicaciones son para preparar un litro de reactivo. Si se necesita menos hay que modificar las cantidades. Preparar nuevos reactivos una vez al mes.

Guardar los reactivos en recipientes grandes y oscuros. Para el trabajo diario se utilizan frascos de tinción de tipo cuentagotas de 250 ml.

#### Solución carbolfucsina al 1%

Primer paso. Preparar 100ml. de solución fucsina saturada:

- Añadir 10 gr. fucsina básica en polvo a 100ml de alcohol etílico al 95%.
- Mezclar con agitación.

Segundo paso. Prepara la solución de trabajo de carbolfucsina al 1%.

- Poner 50 gr. de cristales de fenol en un matraz.
- Colocar el matraz en la pila con agua templada hasta que se disuelvan los cristales.
- Transferir el liquido (50ml.) a una probeta graduada de 1000ml.
- Añadir agua hasta 900 ml.
- Añadir 100ml. de solución saturada de fucsina hasta completar 1000ml y agitar.

Guardar en un frasco opaco. Filtrar antes de utilizar o verter sobre le portaobjetos a través de un pequeño embudo.

#### Ácido-alcohol al 1%

- Llenar completamente un matraz de 1 litro con 1000ml. de alcohol etílico del 95%.
- Quitar 10 ml. de alcohol con una jeringa.
- Poner una pequeña cantidad de ácido clorhídrico(HCl) en un frasco pequeño con mucho cuidado porque es una solución cáustica. No se debe tocar ni inhalar.
- Tomar 10 ml. del HCl con una jeringa **seca**.
- Añadir lentamente el HCl al alcohol del matraz. **Nunca el alcohol sobre el ácido.**
- Depositar el HCl sobrante en su frasco.
- Verter el contenido del matraz en un frasco opaco.

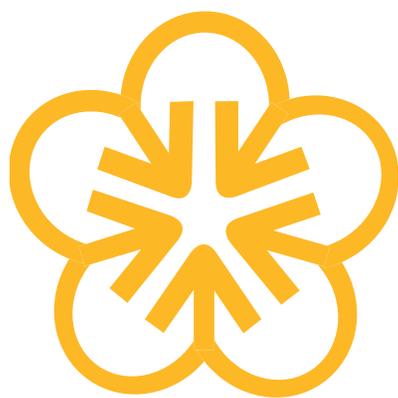
Un método alternativo al ácido-alcohol al 1% es preparar una solución de **ácido sulfúrico** ( $H_2SO_4$ ): Añadir lentamente a 950 ml. de agua destilada ácido sulfúrico concentrado; nunca añadir agua al ácido. Conservar en un frasco opaco.

#### Solución azul de metileno al 0.2%

- Añadir 2 gr. de azul de metileno en polvo a un litro de agua. Mezclar.

Guardar en un frasco opaco. Filtrar regularmente.





**ILEP**