



TAP LUIS ALBERTO CERNA PEREIRA  
FEDATARIO  
Hospital Nacional Hipólito Unanue  
MINISTERIO DE SALUD

18 SEP 2023

# Resolución Directoral

El presente documento es  
COPIA FIEL DEL ORIGINAL  
que he tenido a la vista

Lima 15 de setiembre de 2023

Visto el Expediente N° 23-039181-001, que contiene el Memorando N° 1681-2023-DPCYAP/HNHU, la Jefa del Departamento de Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, solicita la aprobación mediante acto resolutivo del siguiente proyecto de Guía de Procedimiento Asistencial: "Examen de Baciloscopia (BK)";

## CONSIDERANDO:

Que, los numerales I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud disponen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, y que la protección de la salud es de interés público. Por tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, mediante Decreto Supremo N° 013-2006-SA, se aprueba el Reglamento de Establecimiento de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, el cual tiene por objetivo establecer los requisitos y condiciones para la operación y funcionamiento de los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo, orientados a garantizar la calidad de sus prestaciones, así como los mecanismos para la verificación, control y evaluación de su cumplimiento, en el segundo párrafo del artículo 5° del acotado Reglamento, establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben contar en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Que, el artículo 3° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado con Resolución Ministerial N° 099-2012/MINSA, señala entre otros, que son funciones generales del Hospital administrar los recursos humanos, materiales económicos y financieros para el logro de la misión y sus objetivos en cumplimiento a las normas vigentes; así como mejorar continuamente la calidad, productividad, eficiencia y eficacia de la atención de la salud, estableciendo las normas y los parámetros necesarios, así como generando una cultura organizacional con valores y actitudes hacia la satisfacción de las necesidades y expectativas del paciente y su entorno familiar;

Que, con Resolución Directoral 158-2021-HNHU-DG del 17 de junio de 2021, se aprobó la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG "Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2", el cual tiene como finalidad contribuir a garantizar que los usuarios reciban atención de calidad respaldadas por Guías Técnicas de Procedimientos Asistenciales basadas en evidencias científicas, buscando el máximo beneficio y mínimo riesgo a los usuarios y el uso racional de recursos en el Hospital Nacional Hipólito Unanue;

Que, el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, según el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, en el literal j) del artículo 75° señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: Proponer y aplicar los procedimientos y guías de atención para la atención de los pacientes en la Institución, motivo por el cual la propuesta presentada mediante Memorando N° 1681-2023-DPCYAP/HNHU, que contiene el Informe N° 388-SMIyBM-HNHU-2023, del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular;

Que, asimismo, el artículo 11° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, señala que la Oficina de Gestión de la Calidad, se encarga de implementar el Sistema de Gestión de la Calidad en el Hospital para promover la mejora continua de la atención asistencial y administrativa al paciente con la participación activa del personal y en el literal f) del mencionado artículo señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: *Asesorar en la formulación de normas, guías de atención y procedimientos de atención al paciente*, razón por la cual presenta la Guía de Procedimiento Asistencial propuesta;

Que, con Nota Informativa N° 390-2023-OGC/HNHU, la Oficina de Gestión de la Calidad remite el Informe N° 322-2023-KMGM/HNHU, a través del cual se informa que el proyecto de Guía de Procedimiento Asistencial: “*Examen de Baciloscopia (BK)*”, elaborado por el Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, ha sido evaluado y se encuentra acorde de manera estructural a los lineamientos planteados en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG “*Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2*”, aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-HNHU-DG, y que por tanto la Guía de Procedimiento Asistencial propuesta se encuentra apta para su aprobación;

Estando a lo informado por la Oficina de Asesoría Jurídica en su Informe N° 345-2023-OAJ/HNHU;

Con el visto bueno de la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, del Jefe de la Oficina de Gestión de la Calidad y del Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica; y,

De conformidad con lo dispuesto en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG “*Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2*”, aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-HNHU-DG y de acuerdo a las facultades establecidas en el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado por Resolución Ministerial N° 099-2012/MINSA;

### SE RESUELVE:

**Artículo 1.- APROBAR** la Guía de Procedimiento Asistencial: “*Examen de Baciloscopia (BK)*”, la misma que forma parte de la presente Resolución y por los fundamentos expuestos en la parte considerativa.

**Artículo 2.- ENCARGAR** al Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, la ejecución y seguimiento de la Guía de Procedimiento Asistencial aprobada en el artículo 1 de la presente Resolución.

**Artículo 3.- DISPONER** que la Oficina de Comunicaciones proceda a la publicación de la presente Resolución en la Página Web del Hospital <https://www.gob.pe/hnhu>.

**Regístrese y comuníquese.**

MINISTERIO DE SALUD  
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE  
M.C. CARLOS ALBERTO BAZÁN ALFARO  
Director General (e)  
CMP: 17183

TAP LUIS ALBERTO PEREIRA  
PEDATARIO  
Hospital Nacional Hipólito Unanue  
MINISTERIO DE SALUD

18 SEP 2023

El presente documento es  
COPIA FIEL DEL ORIGINAL  
que he tenido a la vista

CABA/FHOR/Marlene G

DISTRIBUCIÓN.

- ( ) D. Adjunta
- ( ) Dpto Patología Clínica y Anatomía Patológica
- ( ) OAJ
- ( ) Of. Gestión de la Calidad
- ( ) Comunicaciones
- ( ) OCI
- ( ) Archivo



PERÚ

Ministerio  
de Salud

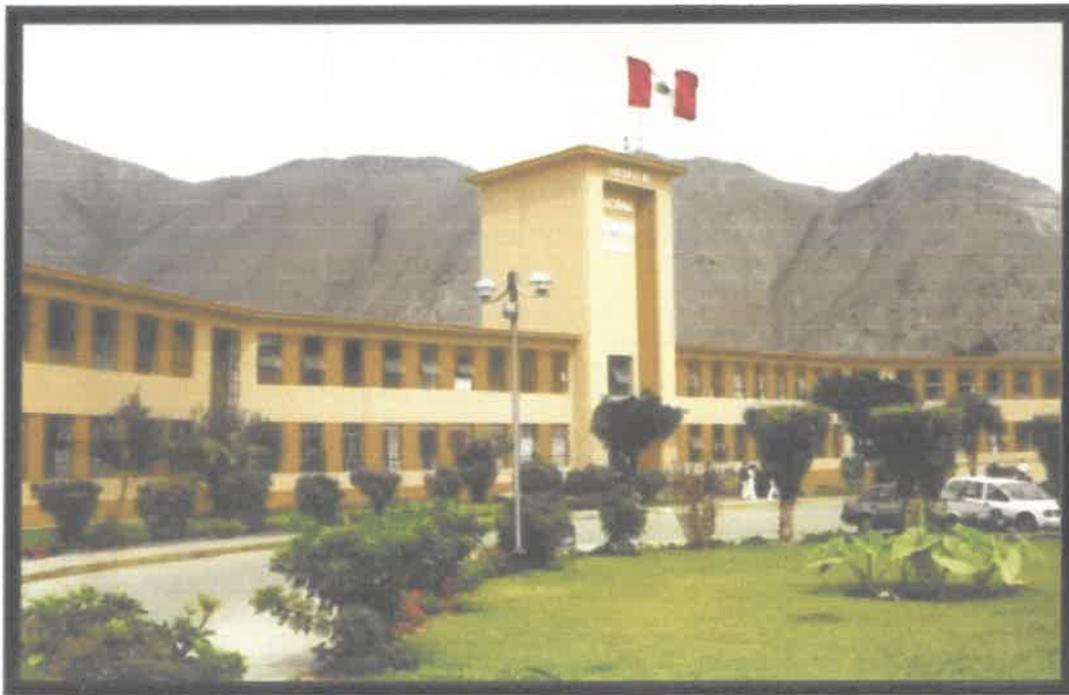
Hospital Nacional  
Hipólito Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

“SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA MOLECULAR”



# HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE



**GUÍA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL: EXAMEN  
DE BACILOSCOPIA (BK)**

**2023**





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



## Equipo de Gestión del Hospital Nacional Hipólito Unanue

**M.C. Carlos Alberto Bazán Alfaro**

Director General

**M.C. Carlos Alberto Bazán Alfaro**

Director Adjunto

**Econ. Ruth Moreno Galarreta**

Directora Administrativa

**M.C. Silvia Paola Vargas Chugo**

Jefa de la Oficina de Gestión de La Calidad

## Grupo Elaborador de Guía de Procedimiento Asistencial: BACILOSCOPIA - BK

**M.C. Priscilla Karina Altamirano Cáceres**

Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica

**M.C. Elizett Blanca Sierra Chávez**

Jefa del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular

**M.C. Rosa Vilma Acurio Usca**

Médico Asistente del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



### DECLARACION DE CONFLICTO DE INTERESES

Los siguientes profesionales firmantes, declaramos no tener conflicto de interés con respecto a las recomendaciones de la Guía de Procedimiento Asistencial, no tener ningún tipo de relación financiera o haber recibido financiación alguna por cualquier actividad en el ámbito profesional académico o científico.

GRUPO ELABORADOR DE LA GUIA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL	DEPARTAMENTO/ SERVICIO	FIRMA Y SELLO
M.C. PRISCILLA KARINA ALTAMIRANO CACERES	Jefe de Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE ..... Dra. PRISCILLA KARINA ALTAMIRANO CACERES PATOLOGA CLINICA C.M.P. 48867 RNE: 34858 Jefe del Dpto. Patología Clínica y Anatomía Patológica
M.C. ELIZETT BLANCA SIERRA CHAVEZ	Jefe de la UPS Microbiología, Inmunología y Biología Molecular	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL "HIPOLITO UNANUE" ..... Dra. Elizett Sierra Chávez JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR C.M.P. 48166 RNE: 27596
M.C. ROSA VILMA ACURIO USCA	Médico Asistencial del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE ..... Dra. ROSA VILMA ACURIO USCA PATOLOGA CLINICA C.M.P. 19995 RNE: 11844 SERV. MICROBIOLOGIA INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR

LIMA, 28 DE FEBRERO DEL 2023



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



## INDICE

	Introducción.....	5
I.	Finalidad y Justificación.....	6
II.	Objetivo.....	6
	2.1 Objetivo general.....	7
	2.2 Objetivos específicos.....	7
III.	Ambito de aplicación.....	8
IV.	Nombre del proceso a estandarizar.....	8
V.	Consideraciones generales.....	8
	5.1. Definiciones operativas.....	11
	5.2. Conceptos básicos.....	12
	5.3. Requerimientos básicos.....	13
	5.3.1 Recursos humanos.....	13
	5.3.2 Recursos materiales.....	13
	Equipos biomédicos.....	13
	Materiales médicos no fungibles.....	13
	Materiales médicos fungibles.....	14
	5.4. Población Diana.....	14
VI.	Consideraciones específicas.....	14
	6.1. Metodología.....	14
	6.2. Descripción detallada de Actividades y Procedimientos.....	28
	6.3. Indicaciones.....	47
	6.4. Contraindicaciones.....	47
	6.5. Complicaciones.....	47
	6.6. Recomendaciones.....	47
	6.7. Indicadores de Evaluación.....	50
VII.	Bibliografía.....	50
VIII.	Anexos.....	52
	Anexo 1. Instructivo Solicitud para investigación bacteriológica en TBC.....	52
	Anexo 2. Preparación de reactivos.....	53
	Anexo 3. Parámetros para la programación del módulo individual.....	54
	Anexo 4. Descarte de láminas de Baciloscopías.....	55
	Anexo 5. Flujograma del procedimiento de Baciloscopía.....	56
	Anexo 6. Diagrama del proceso de Baciloscopía.....	57





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



Anexo 7. Fichas de los Indicadores de Evaluación.....58  
 Anexo 8. Formato de descripción de procedimiento asistencial.....60  
 Anexo 9. Factores de producción del procedimiento por actividad.....64  
 Anexo 10. Protocolo de mantenimiento de Cabina de Bioseguridad.....71  
 Anexo 11. Protocolo de manejo del Pass Through y encendido de la Cabina de Bioseguridad (CBS).....72

### INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis (TB), es una enfermedad infecciosa causada por una bacteria que tiene la forma de bacilo denominado *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), que se transmite a través de las gotitas de saliva que los enfermos eliminan al exterior al hablar, toser o escupir. Esta enfermedad ataca preferentemente a los pulmones, pero puede afectar también a otros órganos del cuerpo humano; generalmente se manifiesta por signos y síntomas generales que van aumentando progresivamente, los que incluyen pérdida de peso y de apetito, tos persistente y fiebre nocturna, entre otras. El diagnóstico se realiza por medio de la observación del bacilo teñido, en el examen directo (baciloscopia) o mediante aislamiento de colonias en los cultivos de las muestras. (1)

El Laboratorio de Bacteriología (Micobacterias) es importante no sólo por el rol que desempeña en el diagnóstico de las enfermedades transmisibles como la TB, sino también en el control de la evolución del tratamiento de los casos, así como también la evaluación epidemiológica y operacional. El laboratorio tiene como función principal, la detección de fuentes de infección tuberculosa a través de la baciloscopia, una técnica básica, sencilla, eficaz y de bajo costo, que debe ser utilizada preferentemente en los sintomáticos respiratorios. Para el caso del cultivo, está orientado al aislamiento e identificación del germen causal de la enfermedad, con la finalidad de hacer estudios de tipificación, susceptibilidad a medicamentos antituberculosos y detectar la emergencia de cepas resistentes. (1)

La elección de la técnica básica más conveniente (baciloscopia y/o cultivo), y su estandarización permitirá la obtención de resultados comparables en todo el país, además de facilitar la capacitación, así como también la ampliación de la cobertura.

La presente Guía de Procedimiento Asistencial: Baciloscopia (BK), brinda información sobre los procedimientos técnicos, para el diagnóstico bacteriológico de la TB. La aplicación de estas técnicas ejecutadas en forma correcta y en condiciones adecuadas,





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



debe garantizar la validez de los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios integrantes de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública. (1)

## I. FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN TÉCNICA

### FINALIDAD

La finalidad de esta Guía de Procedimiento Asistencial: Baciloscopia (BK), es proporcionar al personal de laboratorio, información sobre los procedimientos técnicos, para el diagnóstico bacteriológico de la TB. La aplicación de estas técnicas ejecutadas en forma correcta y en condiciones adecuadas, debe garantizar la validez de los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios integrantes de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública. (1)

### JUSTIFICACION TECNICA

El diagnóstico de la Tuberculosis, se realiza por medio de la observación del bacilo teñido, en el examen directo (baciloscopia) o mediante aislamiento de colonias en los cultivos de las muestras.

El Laboratorio de Bacteriología (Micobacterias) es importante no sólo por el rol que desempeña en el diagnóstico de las enfermedades transmisibles como la TB, sino también en el control de la evolución del tratamiento de los casos, así como también la evaluación epidemiológica y operacional. El laboratorio tiene como función principal, la detección de fuentes de infección tuberculosa a través de la baciloscopia, una técnica básica, sencilla, eficaz y de bajo costo, que debe ser utilizada preferentemente en los sintomáticos respiratorios.

En muchos países la baciloscopia continúa siendo la primera prueba diagnóstica utilizada en grupos de pacientes sospechosos de Tuberculosis no priorizados para el empleo de los métodos rápidos moleculares. Es simple, económica y eficiente para detectar los casos infecciosos (10).

La baciloscopia es un examen simple, de bajo costo y eficaz, para el diagnóstico de la tuberculosis, útil para el control de la evolución del tratamiento del paciente, por lo que su conocimiento debe alcanzar a los servicios de salud del país de todos los niveles.





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



La técnica se basa en que las micobacterias son ácido-alcohol resistentes, que tienen la capacidad de retener el colorante frente a la acción del decolorante alcohol-ácido. Esta característica es debido al alto contenido de lípidos (ácidos micólicos), glucolípidos y ceras en la pared celular de las micobacterias que impiden la salida del colorante del citoplasma de la célula.

La coloración Ziehl-Neelsen, es la técnica más empleada para el diagnóstico de la tuberculosis en todos los países de América Latina, por la capacidad que tiene de identificar fácilmente el bacilo.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo General

- El objetivo de esta Guía de Procedimiento Asistencial: Baciloscopía (BK), es estandarizar los procedimientos técnicos, de Baciloscopía para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular (Laboratorio Cenex) del HNHU, que forma parte de la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Describir el procedimiento preanalítico, analítico y postanalítico actual del examen de Baciloscopía (BK) para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, que se realiza en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular (Laboratorio del CENEX) del HNHU.
- Difundir la Guía de procedimiento asistencial: Baciloscopía (BK) para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, actualizada.



## III. AMBITO DE APLICACION



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



La presente Guía de Procedimiento Asistencial: Baciloscopia (BK), para el Diagnóstico de Tuberculosis, deberá ser aplicado en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue, donde el personal profesional Biólogo, Tecnólogo médico y técnico del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular, ejecutará el ensayo con muestras pulmonares y extrapulmonares, para la detección del bacilo de Koch, para lo cual deberá cumplir con las condiciones de Bioseguridad correspondientes.

#### IV. NOMBRE DEL PROCESO A ESTANDARIZAR

Código Procedimiento Asistencial	DESCRIPCIÓN
CPMS 87115	BACILOSCOPIA (BK)

#### V. CONSIDERACIONES GENERALES

La Tuberculosis (TB) sigue siendo un importante problema sanitario a escala mundial, la tuberculosis es una de las 10 principales causas de muerte y la primera por enfermedades infecciosas, por encima del VIH/Sida. A nivel mundial, en 2021, se estimaron que 10.6 millones de personas enfermaron de tuberculosis, y 1.6 millones fallecieron por esta causa; de ellas, 187.000 tenían coinfección con el VIH. En las Américas, en 2021, se estimaron 309.000 casos de tuberculosis y se notificaron 215.116 (70%). Las muertes estimadas para la región fueron 32.000, de las cuales el 11% (9.000) correspondieron a la coinfección por TB/VIH. Se diagnosticó 4.820 casos de TB-RR/MDR. De estos, el 95% inició tratamiento.

La Estrategia Fin de la TB tiene como propósito terminar con la epidemia de tuberculosis en el mundo y está vinculada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), bajo tres indicadores de alto nivel: reducir el número de muertes por tuberculosis en un 95% comparado con 2015, reducir los nuevos casos en un 90% entre 2015 y 2035, y garantizar que ninguna familia enfrente costos catastróficos debidos a la tuberculosis. (2)





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



En el 2021, según la tabla N° 01, se observa la Situación actual de TB en el Perú. La estratificación de riesgo se obtuvo como producto de la combinación de doce indicadores: 05 epidemiológicos y 07 operacionales. Desde esa perspectiva, se identifica en **riesgo MUY ALTO** a las regiones: Ucayali, LIMA, Callao, Madre de Dios, Tumbes, Cusco y Amazonas. En riesgo ALTO a Loreto, Ica, San Martín, Huancavelica, Apurímac y Puno.(3)

**TABLA N° 01**  
**PERÚ: GRUPOS REGIONALES DE RIESGO PARA TB, 2021**

TENDENCIA DEL RIESGO	MUY ALTO RIESGO	ALTO RIESGO	RIESGO MODERADO	RIESGO LEVE
	Ucayali Lima Callao Madre de Dios Tumbes Cusco Amazonas	Loreto Ica San Martín Huancavelica Apurímac Puno	Tacna Paico Cajamarca Moquegua Ancash Lambayeque	La Libertad Arequipa Piura Ayacucho Junín Huánuco

Fuente: Sistema de Información Gerencial de Tuberculosis (SIGTB)

Para el 2021, la tasa de Incidencia de TB por 100000 habitantes En Perú fue de 82.25 y en el Dpto. de Lima fue 115.28. Las regiones más afectadas fueron: Lima Centro con 181.92, Ucayali con 164.35, Madre de Dios con 152.93, Loreto con 144.18, Callao con una tasa de incidencia de 127.39 , Ica con 112.13, **Lima Este con 108.47**, Tacna con 99.05, Lima Norte con 97.39 y Lima Sur con 81.62 (Fuente de Información: CDC-MINSA 2022) (4)

A nivel nacional, en el 2021, hubo 26,437 casos notificados, el 88% de ellos, son casos nuevos, siendo Lima y Callao las regiones más afectadas en el país. En el HNHU, el total de atendidos en el 2021 fue de 58,561, correspondiente al Dpto. de Neumología, un total de 1750 atendidos, de los cuales, 552 (31.54%) fueron pacientes nuevos con diagnóstico de Tuberculosis. El total de atenciones fue de 5065 pacientes, correspondiente al Dpto. de Neumología, un total de 5065, de los cuales 3060 (60.%) fueron atenciones con Diagnóstico de Tuberculosis.

La pandemia de COVID-19 amenaza con revertir el progreso reciente en la reducción de la carga mundial de la enfermedad de tuberculosis. Los impactos económicos de la pandemia empeoran al menos dos de los determinantes clase de la incidencia de la tuberculosis: el PBI per cápita y la desnutrición. La tuberculosis podría aumentar en más de 1 millón por año en el período 2020-2025. El impacto en los medios de vida resultante de la pérdida de ingresos o el desempleo también podría aumentar el porcentaje con tuberculosis y a nivel económico en los hogares. (5)





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

“SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, INMUNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR”



El Perú, un país con alta prevalencia de tuberculosis, tiene entre sus más graves debilidades el diagnóstico tardío, particularmente en los casos de tuberculosis pulmonar con baciloscopia negativa, en donde muchas veces depende de los resultados de metodologías convencionales. Por lo que es prioritario implementar procedimientos más apropiados para el diagnóstico bacteriológico de la Tuberculosis, así como los métodos rápidos para la detección de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a los medicamentos antituberculosos. (6)

El rol del laboratorio es esencial en la detección de los casos, la confirmación del diagnóstico de tuberculosis, en la evaluación de la eficacia del tratamiento, en la orientación de la elección de esquemas terapéuticos cuando se presenta resistencia a los medicamentos y en la vigilancia de la resistencia a drogas antituberculosas utilizadas por el Programa de Control de la Tuberculosis.

La estandarización de los procedimientos involucrados en el diagnóstico de esta enfermedad, se basa en normas técnicas que son el producto de la amplia experiencia mundial, periódicamente revisada por la Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud y la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias. (7)

La Baciloscopia es la técnica de rutina y herramienta fundamental para el diagnóstico presuntivo de tuberculosis, que debe emplearse en toda muestra tanto de procedencia pulmonar como extrapulmonar. Sabiéndose que “la técnica de Ziehl-Neelsen”, es una coloración diferencial útil en la identificación de las Micobacterias, aunque, no permite la diferenciación de distintas especies. La característica de ácido-resistencia de estos microorganismos, hace de esta coloración un método rápido en el diagnóstico de infección micobacteriana. Sin embargo, la sensibilidad de la baciloscopia es menor del 50%, ya que para que la baciloscopia sea positiva, es preciso que la muestra tenga como mínimo, entre 5.000 y 10.000 bacilos por mililitro de muestra. (8)

La propiedad que presentan las Micobacterias de resistir la decoloración con ácidos fuertes después de ser coloreadas con solución de fucsina caliente, permite reunir las bajo la denominación general de bacilos “ácido resistente” o “ácido-alcohol resistentes”. La ácido-alcohol resistencia es la capacidad de incorporar ciertos colorantes y retenerlos después de someterlos a la acción de ácidos y alcohol, y está determinada por la presencia en la pared celular de los ácidos micólicos que son ácidos grasos de cadenas ramificadas de alto peso molecular. La coloración clásica de Ziehl-Neelsen requiere calentamiento





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

para que el colorante atraviese la pared bacteriana que contiene ceras. Al suspender el calentamiento y enfriar con agua, provoca una nueva solidificación de los ácidos grasos, de modo que el colorante ya no puede salir de las bacterias. Por otro lado, el calentamiento aumenta la energía cinética de las moléculas del colorante, lo cual también facilita su entrada a las bacterias. Las bacterias que resisten la decoloración se observarán al microscopio de color rojo y las que no, se ven de color azul, ya que se utiliza el azul de metileno como tinción de contraste (9)

### 5.1. Definiciones operativas

**Bacilo Acido – Alcohol resistente:** Son microorganismos que tienen la capacidad de incorporar ciertos colorantes y retenerlos después de someterlos a la acción del ácido-alcohol, debido a la presencia en su pared celular de peptidoglicanos, ácidos micólicos, glucolípidos y ceras.

**Coloración de Ziehl Neelsen:** Es una técnica de coloración, para identificar micobacterias. Se realiza en tres tiempos. Tinción (Fucsina básica), decoloración (ácido alcohol) y contraste (azul de metileno).

**Evaluación externa de la calidad:** Es un sistema para comprobar el desempeño de un laboratorio usando una intervención externa.

**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:** Es el Laboratorio de Referencia Nacional de Micobacterias (LRNM), y es el de mayor complejidad técnica, se encarga de asesorar a la red de laboratorios de tuberculosis en el ámbito nacional.

**Laboratorio de Referencia Regional:** 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 gerencia regional de salud.

**Muestra biológica:** Cualquier material biológico de origen humano susceptible de conservación, pudiendo ser: sangre y sus derivados, tejidos, órganos y secreciones.

**Pruebas moleculares:** Analizan el ácido desoxirribonucleico (ADN) del agente etiológico, para identificación y detección de mutaciones asociadas a la resistencia.



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



**Sintomático respiratorio:** Persona que presenta tos y flema por 15 o más días.

**Sustancias infecciosas categoría A:** Aquella sustancia que cuando ocurre su exposición, es capaz de causar incapacidad permanente, enfermedad fatal o para toda la vida en humanos y animales.

**Caso de tuberculosis pulmonar:** Persona a quien se le diagnostica tuberculosis con compromiso del parénquima pulmonar con o sin confirmación bacteriológica. (1)

### 5.2. Conceptos Básicos

La **Baciloscopia (BK)**, es la técnica de rutina y herramienta fundamental para el diagnóstico presuntivo de tuberculosis, que debe emplearse en toda muestra tanto de procedencia pulmonar como extrapulmonar. Sabiéndose que "la técnica de Ziehl-Neelsen", es una coloración diferencial útil en la identificación de las Micobacterias (8)

**Coloración de Ziehl Neelsen:** Es una técnica de coloración, para identificar micobacterias. Se realiza en tres tiempos. Tinción (Fucsina básica), decoloración (ácido alcohol) y contraste (azul de metileno).

**La Baciloscopia (Examen microscópico):** Es un examen simple, de bajo costo y eficaz, para el diagnóstico de la tuberculosis, útil para el control de la evolución del tratamiento del paciente, por lo que su conocimiento debe alcanzar a los servicios de salud del país de todos los niveles.

#### Siglas a utilizar:

**BAAR:** Bacilo Acido – Alcohol resistente

**BK:** Baciloscopia

**DR:** Drogorresistente, drogorresistencia

**EEC:** Evaluación externa de la calidad

**ES-PCT:** Estrategia Sanitaria de Prevención y Control de Tuberculosis

**DPCTB:** Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis

**INS:** Instituto Nacional de. Salud

**LCR:** Líquido cefalorraquídeo

**LiPA:** Siglas del nombre en inglés Line Probe Assay

**LRN:** Laboratorio de Referencia Nacional

**LRR:** Laboratorio de Referencia Regional





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGÍA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



**MDR: Multidrogorresistente/ multidrogorresistencia**

**MGIT: Por las iniciales del nombre en inglés Mycobacterial Growth Indicator Tube**

**MINSA: Ministerio de Salud.**

**MTB: Complejo Mycobacterium tuberculosis**

**OMS: Organización Mundial de la Salud**

**SR: Sintomático Respiratorio**

**ZN: Ziehl Neelsen (1, 11)**

### 5.3 Requerimientos Básicos

#### 5.3.1 Recursos Humanos:

- Médico Especialista en Patología Clínica.
- Profesional Biólogo
- Licenciado en Tecnología Médica.
- Técnico en Laboratorio Clínico

#### 5.3.2 Recursos Materiales:

##### - Equipos Biomédicos

- Microscopio binocular (10X) y objetivo de inmersión(100X)
- Balanza 200 g
- Cabina de Bioseguridad
- Centrífuga de tubos
- Refrigeradora
- Autoclave

##### - Material Médico no Fungible:

- Embudo de vidrio
- Probeta de 500 mL
- Probeta de 100 mL
- Pinza de metal
- Soporte de varillas de vidrio.
- Bandeja de metal o plástico para recepción de muestras (dimensiones: 60 x 40 x 10 cm).
- Termohigrómetro

##### - Material Médico Fungible:





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



- Respirador N95, Bata descartable, Protector ocular, guantes, gorro, botas
- Caja de láminas portaobjetos.
- Aplicadores o palitos de madera.
- Lápiz de cera o lápiz punta de diamante
- Papel lente.
- 03 frascos de color ámbar, tipo cuentagotas, para kit de coloración.
- Papel absorbente.
- Papel plastificado
- Aceite de inmersión.
- Alcohol isopropílico, para limpieza de lente de inmersión
- Reactivos: fucsina básica, azul de metileno, fenol en cristales, ácido clorhídrico, alcohol de 95°, hipoclorito de sodio
- Agua destilada.
- Bolsas rojas de bioseguridad, para material contaminado.
- Soporte para colocar los extendidos
- Libro de Registro de Baciloscopías
- Lapicero

### 5.3 Población Diana:

Población de todos los grupos etarios.

## VI. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

### 6.1 Metodología:

Se realizó la búsqueda bibliográfica de los términos: Tuberculosis, Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis e Importancia del Control de Calidad de la BACILOSCOPIA en los laboratorios de Diagnóstico de Tuberculosis, en los siguientes motores de búsqueda:

PUBMED  
MEDLINE PLUS

2.- OPS/OMS PAHO, **Temas de salud: TUBERCULOSIS.**

3.- OPS. Organismo Andino de Salud. Convenio Hipólito Unanue. Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la región de las Américas".



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGÍA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



Parte 1: **Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis.** 2da. Edición. 2018.

14. **Tuberculosis.** Biblioteca Nacional de Medicina.

15. Misleidis Sardiñas y Cols. **Importancia del control de la calidad de la baciloscopia en los laboratorios de diagnóstico de tuberculosis.** Rev. chil. infectol. vol.33 no.3 Santiago jun. 2016.

Encontrándose lo siguiente:

La tuberculosis (TB) es una enfermedad bacteriana que generalmente ataca los pulmones. Pero también puede atacar otras partes del cuerpo, incluyendo riñones, la columna vertebral y el cerebro.

No todas las personas infectadas con la bacteria de la tuberculosis se enferman. Entonces, hay dos tipos de condiciones de tuberculosis: **Infección de TB latente:** Los gérmenes de la tuberculosis viven en su cuerpo pero no lo enferman. **Enfermedad de tuberculosis (TB activa):** Los gérmenes de la tuberculosis causan enfermedad. Esta afección casi siempre se puede curar con antibióticos. Pero si no se trata adecuadamente, puede ser fatal. En los Estados Unidos hay casos de tuberculosis, pero es más común en otros países. (14) Un total de 1,6 millones de personas murieron de tuberculosis en 2021 (entre ellas 187 000 personas con VIH). En todo el mundo, la tuberculosis es la decimotercera causa de muerte y la enfermedad infecciosa más mortífera por detrás de la COVID-19 (por delante del VIH y el Sida). Se estima que en 2021 enfermaron de tuberculosis 10,6 millones de personas en todo el mundo: 6 millones de hombres, 3,4 millones de mujeres y 1,2 millones de niños. Aunque la tuberculosis está presente en todos los países y grupos de edad, es una enfermedad que se puede curar y prevenir. La tuberculosis multirresistente sigue representando una crisis de salud pública y una amenaza para la seguridad sanitaria. Solo una de cada tres personas con tuberculosis farmacorresistente tuvo acceso al tratamiento en 2021. (2)

La baciloscopia continúa siendo internacionalmente la herramienta primaria en el diagnóstico de la TBC pulmonar activa; esta es la prueba más utilizada no sólo en la búsqueda de casos infecciosos de la comunidad, sino además como medidor de la eficacia del tratamiento en estos pacientes. El control de calidad es el proceso de revisión de los frotis por parte de un observador altamente calificado. (15)

LA MUESTRA

Con la finalidad de que el laboratorio obtenga resultados confiables, necesita una buena muestra, entendiéndose como tal, la que proviene del sitio de la lesión, obtenida en cantidad suficiente, conservada y transportada adecuadamente.

La muestra más examinada es el esputo debido a que, la tuberculosis pulmonar es la más frecuente. Sin embargo, debido a que la enfermedad puede manifestarse en cualquier órgano, pueden investigarse otras muestras como orina, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico, pus, biopsias entre otras. Estas muestras extrapulmonares deben procesarse por cultivo y mediante prueba rápida molecular.

## MUESTRA DE ESPUTO:

### Expectoración Natural

**a. Número de muestras y momento de recolección:** La norma técnica de salud para la atención integral de las personas afectadas por tuberculosis del Ministerio de Salud, establece que se debe examinar dos muestras de esputo por cada sintomático respiratorio. La primera muestra debe obtenerse en el momento de la consulta y la segunda muestra, al día siguiente al despertar por la mañana. Existen excepciones como aquella que requiere hacer el seguimiento diagnóstico con el estudio de más muestras. Para el control del tratamiento, examinar una muestra mensualmente mientras dure la terapia antituberculosa.

**b. Envase: – Boca ancha:** (no menos de 50 mm de diámetro) (Figura 1)



**Figura 1:** Envases de boca ancha

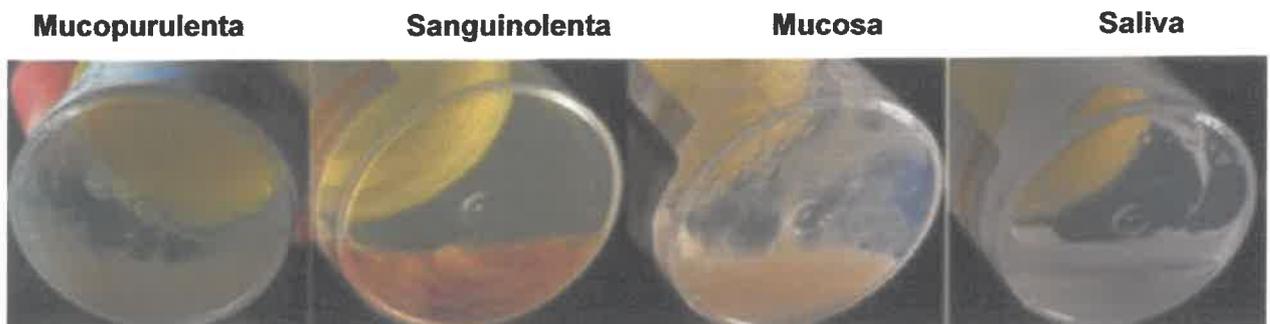
– **Capacidad de 30 a 50 mL:** para que el paciente pueda depositar la expectoración con facilidad dentro del envase, sin ensuciar sus manos o las paredes del frasco y para que en el laboratorio pueda seleccionar y tomar la partícula útil para realizar el extendido.

–**Cierre hermético:** con tapa rosca para evitar derrames durante el transporte y producción de aerosoles al abrir el envase.

– **Material de plástico:** material transparente y desechable que evita la reutilización, que permita observar la calidad de la muestra, rotular fácilmente el nombre y código de identificación de la muestra en el cuerpo del envase.

### c. Obtención de la muestra de esputo:

**Calidad:** una muestra adecuada, es aquella que proviene del árbol bronquial, y es obtenida después de un esfuerzo de tos (Figura 2).



**Figura 2:** Apariencia física de las muestras de esputo  
(Referencia: Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy, Global Laboratory Initiative)

**Cantidad:** la muestra debe tener un volumen aproximado de 3 a 5 mL obtenida de tres expectoraciones sucesivas, salvo justificadas excepciones.

**Primera muestra:** se obtendrá en el establecimiento de salud cuando el personal identifica que el consultante es sintomático respiratorio.

El personal de salud, explica en forma sencilla al paciente, para que produzca el esputo, respirando profundamente, reteniendo aire y produciendo la tos. El paciente repetirá el procedimiento hasta obtener la cantidad adecuada. Para ello, se debe contar con un envase nuevo para esputo, anotar el nombre del paciente y fecha de obtención en el cuerpo del envase, luego entregar el envase rotulado al paciente e indicarle el lugar de obtención de la muestra de esputo.

Este lugar debe contar con buena ventilación y se prohíbe la presencia de otras personas junto al paciente en el momento de la obtención de la muestra. Si el establecimiento de salud no cuenta con el ambiente de obtención, el paciente puede obtener la muestra en un lugar abierto donde no haya presencia de otras personas.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



**Segunda muestra:** el personal de salud entrega un envase al paciente, para la obtención de la segunda muestra, al día siguiente al despertar en ayunas, enjuagándose previamente la boca solamente con agua. El paciente debe seguir la misma explicación, para la obtención de la primera muestra. Posteriormente, debe cerrar bien la tapa del envase y colocarlo dentro de una bolsa de plástico, para llevarlo a la estrategia sanitaria de prevención y control de tuberculosis del establecimiento de salud.

### Métodos especiales para la obtención de muestras

Cuando el paciente no logra expectorar como en caso de niños, enfermos psiquiátricos, ancianos, se recurre a formas especiales de obtención de las muestras.

#### a. Inducción del Espujo:

Está a cargo del personal de salud entrenado. El procedimiento se realizará en una sala de toma de muestra que cuente con buena ventilación, usando respirador N 95, de acuerdo a las siguientes recomendaciones:

- Nebulizar al paciente durante 15 minutos con solución fisiológica, cuya temperatura debe ser apenas superior a la corporal.
- Para facilitar la expulsión de la expectoración puede ser conveniente acostar al paciente boca abajo con una almohada debajo del tórax y la cabeza saliendo de la camilla. Si es posible dar masajes con técnicas fisioterapéuticas.
- Se puede repetir el proceso hasta tres veces.
- Recolectar la primera expectoración producida.
- Entregar el segundo envase para la recolección de las secreciones producidas en las 24 horas siguientes.
- Cuando se trata de niños se debe succionar las secreciones con un aspirador manual o mecánico.

#### b. Lavado Gástrico

La toma de muestra debe estar reservada al profesional de salud entrenado, siendo su aplicación más frecuente en niños. La obtención se realiza por la mañana con el paciente en ayunas, utilizando una sonda nasogástrica por la que se aspira el jugo gástrico. Utilizar una jeringa de 50 mL y vaciar la muestra en un envase limpio de 50 a 100 mL de capacidad; se recomienda, en el caso de no ser posible el envío de inmediato al laboratorio, conservar la muestra en refrigeración (2 a 8°C), teniendo en cuenta que debe ser procesada durante las 4 horas siguientes a su obtención. Se procesa por cultivo.

#### c. Lavado bronquial



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



Es un procedimiento invasivo y está reservado al médico especialista neumólogo o personal profesional entrenado; en este caso procesar la muestra por cultivo. Así mismo, se debe respetar las siguientes recomendaciones:

- Tomar la muestra en una sala bien ventilada y utilizando respirador N 95.
- Utilizar un fibrobroncoscopio esterilizado no más de 15 días antes.
- Entregar al paciente un frasco para que deposite toda la expectoración que por estímulo de la fibrobroncoscopia puede producirse en las 24 horas siguientes.
- Esterilizar el fibrobroncoscopio con glutaraldehído al 2% activado con una sustancia bicarbonatada.
- Después de la esterilización, lavar el fibrobroncoscopio para desprender bacilos muertos que puedan haber quedado adheridos.

## OTRAS MUESTRAS

En este caso la muestra se procesa por cultivo, debido a la escasa cantidad de bacilos y presencia de micobacterias saprofitas. La baciloscopia no es concluyente.

### a. Orina

Se recomienda la orina obtenida en la primera micción de la mañana, previa higiene externa con agua. Recolectar el 2do chorro de orina en un volumen no menor a 50 mL en un envase limpio de boca ancha, se debe investigar tres muestras seriadas, diarias o interdiarias. La muestra debe ser procesada lo más pronto posible, ya que el pH ácido de la orina afecta la viabilidad de la bacteria. La muestra se procesa siempre por cultivo.

Debe recordarse que la prueba de baciloscopia efectuada del sedimento de la orina no es diagnóstico concluyente de tuberculosis, ya que existen micobacterias saprofitas en la orina, que pueden producir resultados falsos positivos en el examen de baciloscopia por lo que se espera el resultado del cultivo como concluyente.

### b. Líquidos pleural, ascítico, pericárdico, articular y otros

La obtención de estas muestras está reservada al personal médico; la cantidad y el volumen es el que estime el especialista, y se debe utilizar envase estéril de capacidad adecuada para la cantidad de la muestra. La muestra se debe procesar lo más rápido posible por cultivo.

### Líquido cefalorraquídeo



**Figura 3:** Caja de acero inoxidable

- En el caso de que se requiera transportar la muestra fuera del establecimiento de salud, utilizar contenedores de plástico resistentes, que incluyen porta-frascos con divisiones para colocar los envases. El transporte está a cargo del personal de salud, para disminuir cualquier accidente en el transporte y asegurar la muestra (Figura 4).



**Figura 4:** Contenedores de plástico

**b. Transporte de muestras al Laboratorio de Nivel Regional y/o al laboratorio de referencia nacional de micobacterias del Instituto Nacional de Salud (LRNM-INS):**

Para el transporte de muestras de esputo desde los laboratorios de nivel local al LRR, y/o al LRNM-INS, se debe realizar según lo indicado en la NTS N° 153-MINSA/2019/INS:

"Norma Técnica de Salud sobre Preparación, Embalaje y Documentación para el Transporte Seguro de Sustancias Infecciosas" (12).



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

“SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGÍA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR”



La obtención de la muestra está reservada al personal médico. Obtenida la muestra en un volumen aproximado de 1-2 mL, utilizar un envase estéril con tapa rosca. La muestra se procesa por cultivo inmediatamente, de no ser posible, ésta debe ser conservada de 2 a 8°C por un lapso de tiempo no mayor a las 12 horas. (13)

#### d. Biopsia

La obtención de la biopsia está reservada al personal médico, utilizando un envase estéril. La muestra se divide en dos partes: una parte en solución salina para enviar al laboratorio para el cultivo y la otra, en frasco con formol al 10%, para el estudio histopatológico. (1,10)

### CONSERVACION DE LA MUESTRA

La muestra de esputo debe procesarse lo más pronto posible después de su obtención, de no ser posible procesarla el mismo día, se debe conservar en refrigeración de 2-8 °C, hasta los siete días; aunque de preferencia deberían ser procesadas dentro de los 3 días para evitar la contaminación de los cultivos. En cuanto a cultivos positivos, una vez realizada la lectura, deben ser enviados al laboratorio de referencia de salud pública, para la realización de la prueba de susceptibilidad u otra prueba.

Si las muestras solo van a ser procesadas por baciloscopia y requiere ser conservada por varios días, deberán ser esterilizadas agregando 10 gotas de fenol al 5%, el mismo día que son recepcionadas.

### TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

En el transporte de las muestras debe tenerse en cuenta los siguientes aspectos:

- Proteger la muestra del calor excesivo y de la luz solar.
- Verificar el cierre hermético de la tapa de los envases para evitar derrames de la muestra.

#### a. Transporte de muestras en el Nivel Local:

- El transporte de muestras dentro del establecimiento de salud, desde la estrategia de tuberculosis del establecimiento al laboratorio, se realiza utilizando las cajas de acero inoxidable. Todas las estrategias de TB del MINSa cuentan con este material (Figura 3).



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



## AMBIENTE Y MATERIAL DE TRABAJO

Siempre deben aplicarse las normas de bioseguridad para el manejo de muestras potencialmente infectantes.

### Distribución de áreas en el Laboratorio:

Debe considerarse la distribución de áreas, para las tareas siguientes:

- Recepción de muestras.
- Preparación y fijación de los extendidos.
- Coloración de los extendidos.
- Microscopía y registro de resultados.

Esta distribución evitará los movimientos cruzados y permitirá que el ambiente esté despejado. El laboratorio de TB podría ser independiente o compartido, con tareas y horarios diferenciados. Para ello, deberá existir una coordinación entre todo el personal de salud que trabaja en el área (Figura 5).

Evitar tomar muestras durante el proceso de las baciloscopías, sobretodo en los laboratorios donde comparten el área de recepción de muestras, preparación y fijación de los extendidos.

### Condiciones mínimas del Laboratorio:

El laboratorio deberá tener las siguientes condiciones mínimas:

- Buena Iluminación.
- Ventilación adecuada del laboratorio a través de ventanas amplias (o extractor de aire), a fin de renovar el aire del laboratorio.
- Pisos y paredes lisas, lavables, que pueden ser resistentes a soluciones de limpieza.
- Mesa de trabajo por lo menos 1,00 m. x 0,60 m., de material lavable y resistente a soluciones desinfectantes.
- Dos lavaderos con caños (uno para lavado de manos y otro para la tinción de láminas), agua y desagüe.
- Un armario para reactivos y demás materiales.
- Mesa para el microscopio.



**Figura 5.** Área de baciloscopia

## **NORMAS DE BIOSEGURIDAD**

La bioseguridad es un conjunto de medidas preventivas de sentido común, para proteger la salud y la seguridad del personal que trabaja en el laboratorio frente a posibles riesgos producidos por agentes biológicos, físicos o químicos.

Ningún elemento de protección es tan importante como la información, organización, concentración en el trabajo, estado de alerta y las medidas de prevención.

### **Del Personal**

- El personal nuevo debe ser instruido sobre los riesgos que hay en el trabajo cotidiano y en las actividades que se desarrolla en el laboratorio. El personal debe estar considerado en el programa anual de chequeo médico.
- El personal debe conocer al supervisor responsable, a quien debe notificar de forma inmediata cualquier accidente de trabajo.
- El personal inmunocomprometido como diabetes, VIH o embarazo, son grupos de mayor riesgo que pueden desarrollar TB en caso de infectarse con el bacilo, por lo que se recomienda dar actividades en áreas de bajo riesgo.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



- Todo laboratorio debe estar adecuadamente ventilado e iluminado y contar con servicios adecuados, funcionales y operativos de agua, luz y gas.
- El área del laboratorio donde se manipula el material infeccioso se denomina **ÁREA CONTAMINADA** y debe estar ubicada en un lugar alejado de la puerta de entrada al laboratorio y de los lugares en los que se producen habitualmente corrientes de aire. El teléfono no debe instalarse en el ambiente físico donde se encuentra el área contaminada.
- Las mesas de trabajo deben confeccionarse con material sólido con superficies lisas, impermeables y resistentes a las sustancias corrosivas y de fácil limpieza.
- Se dispondrá en las áreas de trabajo sólo de los equipos y materiales necesarios.
- Las paredes y los pisos deben ser lisos para facilitar la limpieza con soluciones desinfectantes.
- Al sistema de desagüe sólo se debe eliminar los agentes biológicos o químicos previamente descontaminados, neutralizados o inactivados con fenol al 5% durante 30 min
- En las puertas de los laboratorios debe estar obligatoriamente la señal de Riesgo Biológico.
- Cuadernos y formatos de trabajo deben ubicarse en otra área.

#### **Del equipo de protección personal**

- El personal debe usar en todo momento la ropa de protección mientras trabaja en el laboratorio. La ropa de protección no debe llevarse fuera de la zona del laboratorio (por ejemplo, en la cafetería, las oficinas, la biblioteca, los vestuarios o los aseos). La ropa de laboratorio debe guardarse en un área, separado de la ropa de calle. La ropa de laboratorio limpia se guardará en una zona del laboratorio distinta de la destinada a la ropa sucia. La ropa de laboratorio se cambiará al menos una vez a la semana, pero no se lavará a casa.
- Las batas de laboratorio deben tener manga larga y puño y se cerrarán a la espalda. El personal del laboratorio debe tener a su disposición batas de distintas tallas.
- El personal que tiene el cabello largo, mantener amarrado hacia atrás y utilizar un gorro en forma obligatoria.
- Antes de ingresar al área de riesgo quitarse los brazaletes o collares para evitar accidentes de trabajo.
- Utilizar guantes en todos los procedimientos que requieran contacto directo con muestras de esputos, sangre, líquidos corporales u otro material potencialmente infeccioso. Después de utilizar los guantes deben retirarse de forma aséptica y a continuación lavarse las manos.





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



### Del Ambiente

- Las instalaciones del laboratorio de tuberculosis pueden clasificarse en tres grandes niveles de riesgo, según las actividades que se realicen y los riesgos que lleven asociados:
  - Riesgo bajo.
  - Riesgo moderado.
  - Riesgo alto (considera barreras de contención primaria y secundaria en el laboratorio).
- La baciloscopia directa del esputo, cuando se realiza con buenas prácticas microbiológicas implica un riesgo reducido de generar aerosoles infecciosos, por lo que este procedimiento puede realizarse en una superficie de trabajo abierta, siempre que se asegure una ventilación adecuada.
- Los procedimientos en los que se homogenizan las muestras, como los que se utilizan durante la digestión y el tratamiento de muestras para la inoculación de cultivos, las pruebas de susceptibilidad antibiótica o los ensayos directos con sondas en línea, presentan mayor riesgo de generación de aerosoles que otros procedimientos, incluso cuando se utilizan buenas técnicas microbiológicas, de modo que estas actividades deben realizarse en una CSB en un laboratorio de contención de tuberculosis.

Nivel de riesgo del laboratorio de tuberculosis	Actividades del laboratorio	Evaluación del riesgo
Riesgo bajo:	Baciloscopia directa del esputo; Preparación de muestras para prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos: Xpert MTB/RIF	Bajo riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de muestras; baja concentración de partículas infecciosas.
Riesgo moderado:	Tratamiento y concentración de muestras para la inoculación en medios de cultivo primarios; antibiograma directo como ensayos de sonda en línea.	Riesgo moderado de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; baja concentración de partículas infecciosas.
Riesgo alto:	Manipulación de cultivos para identificación; antibiogramas o ensayos de sonda en línea.	Alto riesgo de generación de aerosoles infecciosos a partir de las muestras; alta concentración de partículas infecciosas.





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



- Lavarse las manos después de: cualquier incidente de contaminación, al terminar una tarea en la que se haya manejado material infeccioso y antes de abandonar las zonas de trabajo del laboratorio.
- Las manos se jabonan, frotándolas bien durante al menos 15 segundos; después se enjuagarán en agua limpia y se secarán con papel toalla.
- De preferencia contar con grifos automáticos o los que no requieran utilizar las manos, pero cuando esto no sea posible, se utilizará una toalla de papel para cerrar los grifos a fin de no volver a contaminar las manos limpias.
- Prohibido comer, beber, fumar, utilizar cosméticos y manipular lentes de contacto en el laboratorio.
- Estará prohibido almacenar alimentos o bebidas en cualquier lugar de las zonas de trabajo del laboratorio.
- No debe llevarse calzado abierto en el laboratorio.
- No debe utilizarse teléfonos móviles en el laboratorio.

### De los procedimientos

- Todos los procedimientos se realizarán de modo que se reduzcan al mínimo la formación de aerosoles.
- Prohibido pipetear con la boca.
- Las etiquetas que se empleen en el laboratorio deben ser autoadhesivas.
- Se eliminará el uso de agujas y jeringuillas (estos materiales nunca se emplearán para reemplazar las pipetas).
- La documentación escrita que se retire del laboratorio debe protegerse de la contaminación.
- Al preparar los extendidos de la muestra de esputo, es preferible utilizar aplicadores de madera o palillos de madera.
- Cuando se prepare un frotis utilizando el aplicador o palillo, se harán movimientos suaves para evitar la creación de aerosoles.
- No se moverán ni fijará con calor los frotis hasta que se hayan secado al aire por completo.
- Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados, deben de descontaminarse debidamente antes de desecharlos o de limpiarlos para utilizarlos de nuevo.
- Todos los accidentes, derrames y potenciales exposiciones a material infeccioso deben de comunicarse al director del laboratorio.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



### De las zonas de trabajo

- El laboratorio debe dividirse en zonas: funcionalmente limpias y potencialmente contaminadas; las zonas limpias se reservan para las tareas administrativas y de preparación. El acceso a las zonas limpias y las zonas contaminadas debe ser decidido y controlado por el responsable del laboratorio.
- El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre del material y equipo que no se utilice para realizar las tareas cotidianas. El equipo y material que no se está utilizando o que no funcionan deben de ser retirados de las zonas de trabajo.
- Las superficies de trabajo se descontaminarán después de todo derrame de material potencialmente infeccioso y al final de cada sesión de trabajo.

### Del diseño de instalaciones

- En un laboratorio de tuberculosis de bajo riesgo las barreras secundarias incluyen separar del público la zona de trabajo del laboratorio, asegurar una gestión apropiada de los desechos y proporcionar medios para el lavado de manos.
- En un laboratorio de tuberculosis de alto riesgo, la presencia de una antesala que separe el laboratorio de las zonas públicas sirve como barrera secundaria adicional.
- Al diseñar un laboratorio de tuberculosis debe prestarse especial atención a aspectos que influyen en problemas de seguridad, como el uso de superficies permeables, el exceso de personal en las áreas de trabajo, la posibilidad de que personas no autorizadas entren al laboratorio, el flujo de personal y pacientes cerca o dentro del laboratorio y un flujo de trabajo mal diseñado.

### Aspectos básicos que se recomiendan para un laboratorio de tuberculosis

- Ventilación adecuada y un flujo de aire direccional.
- Espacio de acuerdo al nivel de riesgo para la realización del trabajo de laboratorio, en condiciones de bioseguridad, así como para la limpieza y el mantenimiento.
- Las paredes, los techos y los suelos deben ser lisos y fáciles de limpiar. Los suelos serán antideslizantes.
- Las superficies de trabajo deben ser resistentes al agua y a las sustancias químicas y los desinfectantes que normalmente se emplean en el laboratorio, también deben ser resistentes al calor moderado.
- La iluminación debe ser resistente para todas las actividades. No deben utilizarse cortinas.





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



- El mobiliario del laboratorio debe ser sólido y estar hecho de materiales resistentes para poder descontaminarse fácilmente. No debe utilizarse ningún mueble tapizado ni entelado.
- Los espacios abiertos entre mesas de trabajo, muebles, equipos y los espacios inferiores deben ser accesibles para permitir su limpieza.
- El espacio de almacenamiento debe ser suficiente para contener el material de uso inmediato e impedir la acumulación en las superficies de trabajo y en los pasillos exteriores del laboratorio. Debe ofrecerse espacio adicional para almacenamiento a largo plazo que se situará de manera cómoda fuera de las zonas de trabajo.
- Se reservará una zona para la preparación, la manipulación y almacenamiento en condiciones de seguridad de ácidos, tintes y disolventes.
- Proveer un lugar donde guardar la ropa de calle y los objetos personales. Este lugar debe estar ubicado fuera de las zonas de trabajo.
- En cada área de trabajo del laboratorio debe contar con un grifo para el lavado de manos con jabón líquido de preferencia cerca de la salida. Se recomiendan los grifos automatizados o que puedan manejarse sin las manos. Cerca del grifo se debe de contar con un dispensador de papel toalla.
- Contar con suministro eléctrico y fiable. (13)

## 6.2. DESCRIPCION DETALLADA DE ACTIVIDADES O PROCEDIMIENTOS

### PROCEDIMIENTO PREANALITICO:

#### **RECEPCION DE LA MUESTRA: A CARGO DEL TÉCNICO DE LABORATORIO**

El personal Técnico de Laboratorio de Micobacterias y Biología molecular, recepciona la muestras pulmonares y extrapulmonares con la respectiva solicitud bacteriológica, debiendo realizar las siguientes actividades:

- a) La recepción de las muestras en el laboratorio se realiza cumpliendo las medidas de bioseguridad que correspondan.
- b) ..Las muestras deben estar protegidas de la luz solar.
- c) .. Verificar que las muestras estén bien rotuladas y coincidan con las solicitudes de investigación bacteriológica. Utilizar un lapicero o marcador adecuado, de tal manera que no se borren los datos del paciente.
- d) Si existe un pequeño derrame del contenido, proceder a limpiar el envase con hipoclorito de sodio al 1% o desinfectante de uso del laboratorio.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



- e) Si el derrame es masivo en la caja de transporte, se debe descontaminar y descartar la muestra, previa esterilización en autoclave.
- f) Evaluar la cantidad y la calidad de las muestras.
- g) Notificar y hacer las recomendaciones al establecimiento de salud remitente sobre las deficiencias de los envíos como, identificación, calidad, volumen o la forma del envío.

### PROCEDIMIENTO ANALITICO:

### **PROCESO DE LA BACILOSCOPIA: A CARGO DEL TECNICO, TECNOLOGO MEDICO O BIOLOGO:**

#### **LA BACILOSCOPIA (Examen microscópico)**

La coloración Ziehl-Neelsen, es la técnica más empleada para el diagnóstico de la tuberculosis en todos los países de América Latina, por la capacidad que tiene de identificar fácilmente el bacilo.

#### **PREPARACION DEL EXTENDIDO**

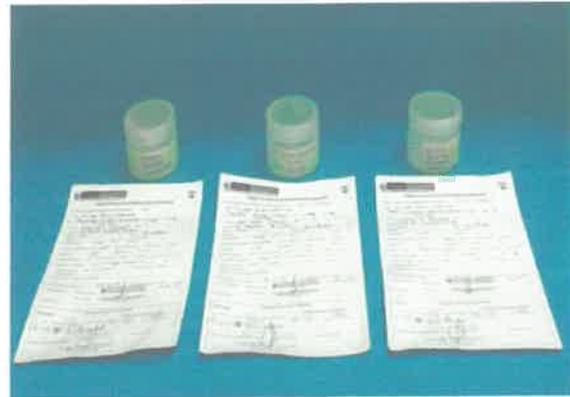
Antes de empezar el trabajo, el personal encargado debe realizar lo siguiente:

- Lavarse las manos y ponerse bata de protección, guante desechable y respirador N 95.
- Verificar los materiales necesarios para la ejecución de los extendidos.
- Todas las fases de preparación del extendido son completamente sistematizadas, así como la conservación y el orden de las muestras.
- Procesar las muestras por series. Cada serie no debe ser mayor de 12 muestras.
- Utilizar láminas portaobjetos nuevas y desengrasadas con alcohol a 95°, para realizar los extendidos (No reutilizar las láminas portaobjeto).

Las etapas de la preparación del extendido son las siguientes:

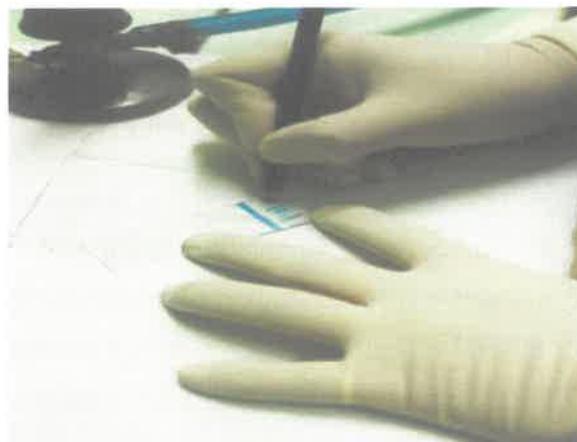
#### **Organización del área de Trabajo:**

- Colocar sobre la mesa de trabajo una hoja doble de papel periódico o una bandeja de metal con papel periódico, humedecido con un desinfectante de uso del laboratorio (hipoclorito de sodio al 1%).
- Ordenar las muestras con el código correspondiente a la solicitud del examen (Figura 6).



**Figura 6:** Identificación de muestras y láminas

- Para cada muestra, enumerar una lámina portaobjeto, que debe ser el mismo número asignado en la solicitud del examen (Figura 7)



**Figura 7:** Codificación de la lámina



- Colocar las muestras de esputo al lado izquierdo del analista, en orden creciente de numeración, luego ubicar cada lámina delante de la muestra.
- Tomar la primera muestra y la lámina correspondiente y colocar detrás del mechero de manera que la llama quede entre el operador y el frasco (esta posición protegerá al operador de posibles formaciones de aerosoles al abrir el envase y realizar el extendido).

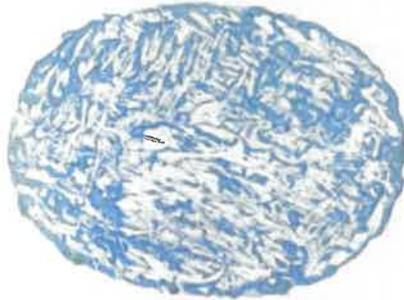
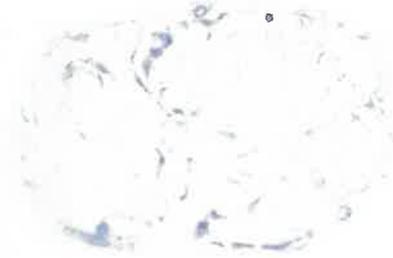
#### Realización del extendido:

- Destapar cuidadosamente el envase, para evitar la formación de aerosoles. Si la muestra estuvo en movimiento dejar reposar 20 min antes de empezar a realizar los extendidos.
- Tomar el palillo entre el pulgar y el índice de la mano, para luego seleccionar la partícula más densa o purulenta de la muestra de esputo y enrollarla en el aplicador (Figura 8).



**Figura 8:** Selección de la partícula útil y realización del extendido

- Colocar en el portaobjeto, homogenizar y extender, haciendo movimientos de vaivén, en el centro de la lámina sin llegar al borde, dando la forma oval o rectangular hasta lograr un extendido homogéneo (ni muy fino ni muy grueso) de tamaño de 2 cm de largo x 1 a 2 cm de ancho. **Por ningún motivo debe calentarse la lámina mientras se haga el extendido**, debido a que el calor puede generar aerosoles y podría alterar la estructura de los bacilos cuando la lámina se recalienta (Figura 8).
- Los extendidos deben de ser homogéneos para facilitar la coloración y lectura (Figura 9).

**Homogéneo****No Homogéneo****Figura 9: Tipos de extendidos**

(Referencia: Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy, Global Laboratory Initiative)

- Colocar los extendidos en un soporte y dejar secar a temperatura ambiente.
- Desechar el aplicador en un recipiente de descarte con hipoclorito al 1%.
- Cerrar el envase de la muestra y colocarlo en el lado opuesto.
- Continuar el proceso de cada una de las muestras de la misma manera.
- Conservar las muestras hasta terminar las lecturas de las Baciloscopías.
- Antes desechar las muestras, verificar que no sea necesario realizar nuevos extendidos o enviar para cultivo o pruebas rápidas.
- Finalizado el trabajo, limpiar la superficie de la mesa con una toalla de papel o algodón embebido en una solución desinfectante (hipoclorito al 1%) y descartar los guantes desechables.

**Fijación del extendido:**

- Esperar que los extendidos se hayan secado a temperatura ambiente.
- Tomar con una pinza cada lámina manteniendo la cara que contiene la muestra hacia arriba y pasar sobre la llama de un mechero de dos a tres pasajes rápidos, cuidando que no se caliente demasiado (Fig. 10).

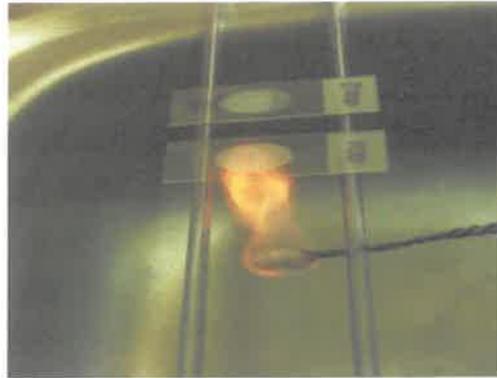


Fig. 10: Fijación de la lámina al mechero

### TINCIÓN: CON TECNICA DE COLORACION - ZIEHL NEELSEN (ZN)

La técnica más recomendada es la tinción de Ziehl Neelsen. Todos los colorantes y soluciones deben ser filtrados, previo a su uso.

#### Kit de coloración: (Figura 11)

- Colorante: Fucsina fenicada al 0.3%\*\*
- Decolorante: Alcohol ácido al 3%
- Colorante de Contraste: Azul de Metileno al 0.1%



Figura 11: Kit de Ziehl Neelsen

\*\* Fucsina fenicada al 1% también es aceptada.



### Primer Paso: Coloración

- Colocar sobre el soporte de coloración (dos varillas de vidrio) la serie de láminas fijadas con el extendido hacia arriba, separadas una de la otra con el número hacia el operador (Figura 12).

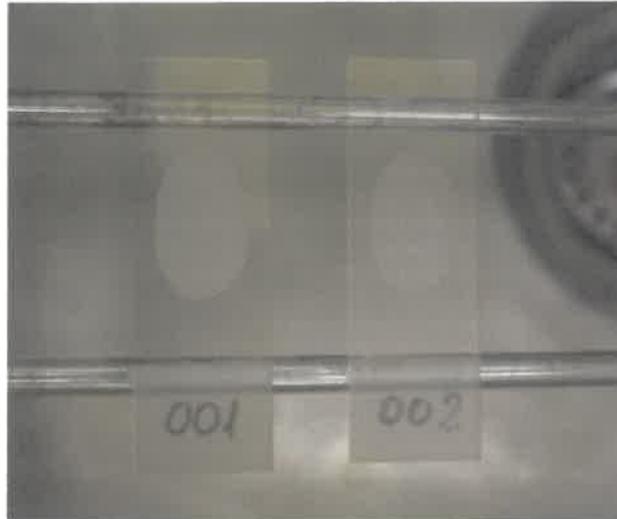
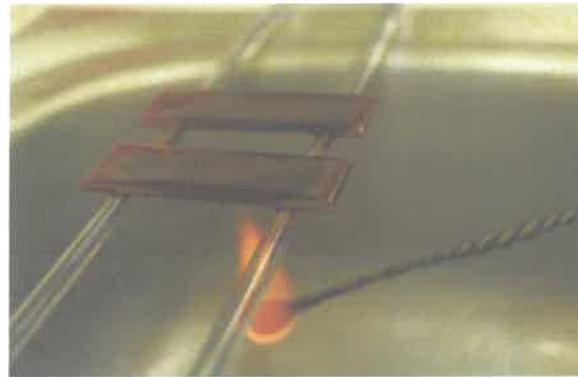


Figura 12: Láminas colocadas en el soporte de coloración

- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la colorante fucsina fenicada, previamente filtrada. No use colorante sin filtrar (Figura 13).

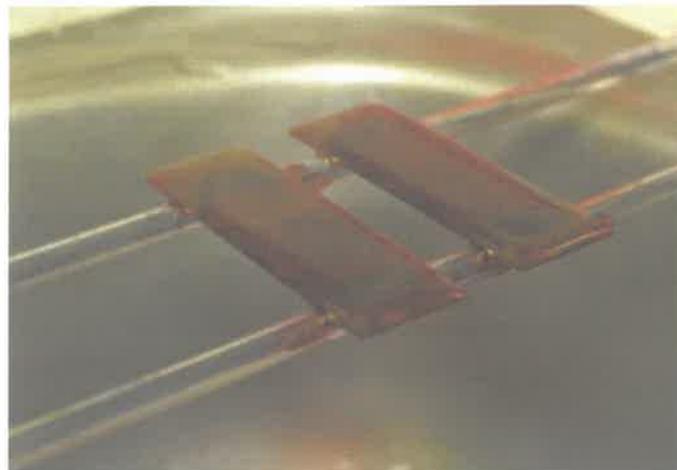


- Calentar suavemente con la llama de un hisopo de algodón humedecido en alcohol (no calentar con mecheros) por debajo de los extendidos, hasta la emisión de vapores, repetir el proceso tres veces. No debe hervir el colorante. Si el volumen del colorante disminuye por evaporación, agregar hasta cubrir totalmente el extendido y dejar enfriar (Figura 14.)



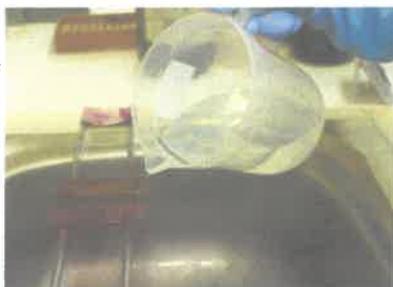
**Figura 14:** Emisión de vapores.

El tiempo mínimo de coloración con fucsina fenicada es de 5 minutos (Figura 15)



**Figura 15:** Fucsina fenicada por 5 minutos

- Con una pinza levantar la lámina cuidadosamente, eliminar el colorante inclinandola hacia adelante, dejar caer el agua a baja presión sobre la parte que no tiene el extendido. Girar la lámina y lavar con cuidado la parte posterior (Figura 16).



-Cubrir la superficie del extendido con el colorante azul de metileno, previamente filtrado, durante 1 minuto (Figura 18)

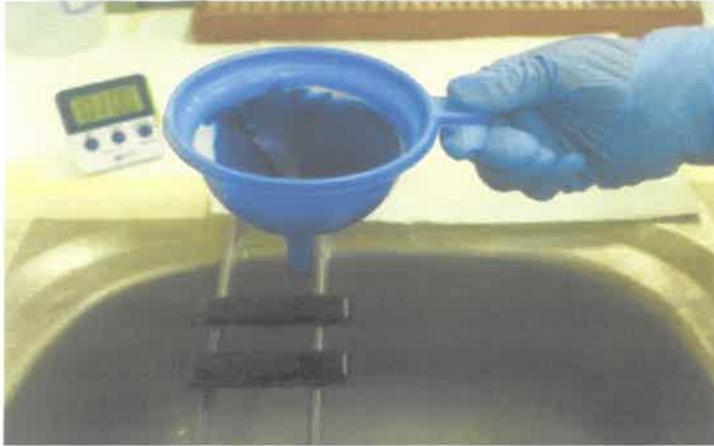


Figura 18: Coloración con azul de metileno al 0.1%

- Eliminar el azul de metileno y lavar cada lámina con agua a baja presión, por ambos lados (el que tiene el extendido, como el otro lado), y limpiar la parte inferior con algodón (Figura 19).

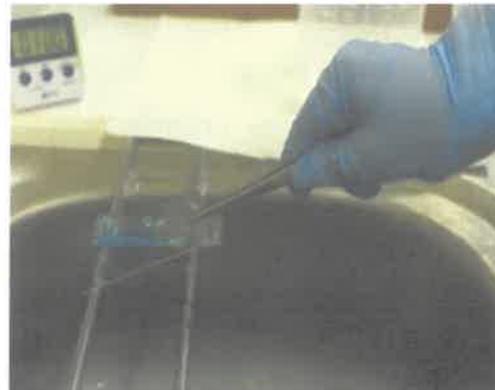


Figura 19: Eliminación del azul de metileno

- Colocar las láminas coloreadas en orden numérico sobre el soporte y dejar secar al medio ambiente.  
- Verificar la numeración de la lámina y si es necesario volver a numerar antes de la observación al microscopio (Figura 20).

**Figura 16:** Coloración con fucsina fenicada al 0.3%

### Segundo Paso: Decoloración

- Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con la solución de alcohol ácido durante tres minutos (Figura 17).



**Figura 17:** Decoloración utilizando alcohol ácido al 3%

- Enjuagar con agua a baja presión, cuidando de no desprender la película formada por el extendido.
- Se considera decolorado cuando se observa coloración rosa pálido. Si se observa coloración rosado intenso o cúmulos rojos, volver a decolorar nuevamente, efectuando movimientos en vaivén de la lámina.
- Eliminar el exceso de agua inclinando la lámina.

### Tercer Paso: Coloración de fondo





Figura 20: Observación al microscopio

### OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

La observación microscópica tiene dos objetivos importantes:

- Determinar si en el extendido hay bacilos ácido alcohol resistente (BAAR).
- Establecer el número aproximado de bacilos en los campos observados.

### Características morfológicas del bacilo de la Tuberculosis

- Los bacilos acidorresistentes tienen entre 1 y 10  $\mu\text{m}$  de largo. Con la coloración de ZN se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, rojo fucsia destacándose claramente contra el fondo azul. En los extendidos teñidos con Auramina-O los bastoncitos se observan con fluorescencia amarilla (aunque con algunos sistemas de filtro pueden aparecer verdosos). A veces se observan con gránulos o cuentas intensamente coloreados en el interior. En las muestras de esputo pueden presentarse aislados, apareados o agrupados (Figura 25).

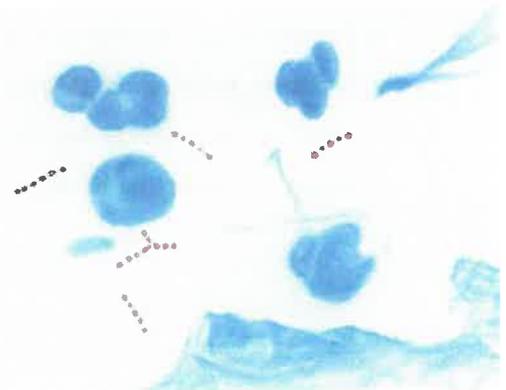
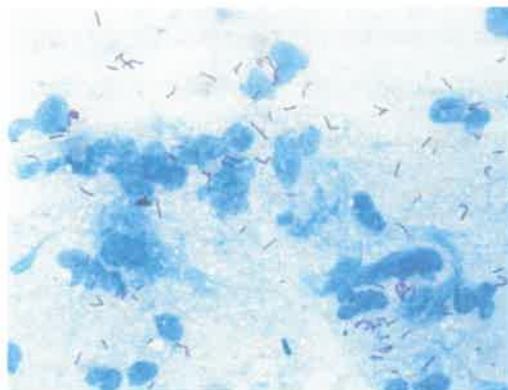


Figura 25: Bacilos ácido alcohol resistente (BAAR)

(Referencia: Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy, Global Laboratory Initiative)



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



Es muy difícil distinguir el bacilo de la tuberculosis de otras micobacterias por examen microscópico. Algunas micobacterias que no son *M. tuberculosis* pueden aparecer como bastones muy largos o como bacilococos.

### Lectura e informe de resultados de extendidos coloreados con Ziehl Neelsen:

Es importante tomar en cuenta las siguientes indicaciones:

a. Ubicar sobre una mesa, el microscopio y todos los elementos que se requieren para la lectura:

- Aceite de inmersión
- Papel lente
- Hoja de registro y lapicero
- Caja para conservar láminas coloreadas

b. Colocar una gota de aceite de inmersión en un extremo del extendido, sin tocar la muestra con el gotero.

c. Usando el objetivo 10X y objetivo de inmersión de 100X, enfocar la muestra, y examinar avanzando de izquierda a derecha del extendido, observando un mínimo de 100 campos útiles (lo que un analista capacitado hace aproximadamente en 5 minutos). Se considera campo microscópico útil, a aquel espacio en el cual se observa elementos celulares de origen bronquial (leucocitos, fibras mucosas y células ciliadas). Los campos en que no aparezcan dichos elementos no deben contabilizarse en la lectura.

d. Cada campo microscópico, se debe observar en superficie y en profundidad, para lo cual se utilizará permanentemente el micrométrico.

e. Contar el número de campos y el número de bacilos observados. Podría utilizarse como ayuda una hoja con cuadrícula de 10 por 10 cuadrados, representando los 100 campos microscópicos, donde se debe anotar en cada cuadrado el N° de BAAR observados, en caso de no observar BAAR anotar 0 (Figura 26).



1	0	0	0	2	1	1	0	0	4
0	1	2	0	0	3	1	1	0	0

Figura 26: Hoja de ayuda para la lectura de la baciloscopia

f. Si en una lámina se encuentra menos de 5 bacilos en 100 campos microscópicos, debe ampliarse la lectura a 100 campos más. Si el resultado persiste, realizar otro extendido de la misma muestra. Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado del anterior se debe informar el número de bacilos encontrados anotando en el libro de registro el hallazgo y solicitar nueva muestra o derivar la muestra para cultivo.

g. Al término de la lectura, retirar la lámina de la platina del microscopio, limpiar el exceso de aceite del objetivo de inmersión con papel lente. Este procedimiento se debe de repetir cada vez que leamos una lámina diferente, para evitar la transferencia de material al siguiente frotis. Finalmente, dejar las láminas en un papel absorbente hasta lograr retirar el aceite de inmersión y luego guardarlas (Figura 27).



Figura 27: Limpieza del objetivo



PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

El número de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en que concentración: Se recomienda la siguiente escala semicuantitativa para el informe de los resultados de extendidos examinados por la técnica de Ziehl Neelsen:

Promedio de BAAR encontrados	Número mínimo de campos útiles a examinar
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20

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

## REGISTRO DE RESULTADOS

- Registrar el resultado de la lectura en el Libro de Registro del Laboratorio (marcar los resultados positivos en rojo, para rápida identificación).
- Escribir el resultado en el formulario de solicitud de investigación bacteriológica.
- Enviar el resultado dentro de las 24 horas de haber recibido la muestra.

## SISTEMA DE REGISTRO DE LAS BACILOSCOPIAS

Los registros son medios prácticos para obtener información que ayudan en las actividades de vigilancia, supervisión y evaluación de la estrategia sanitaria nacional de prevención y control de la tuberculosis. Además, ofrecen la información necesaria para preparar los informes mensuales y trimestrales sobre detección y control de casos.

Una vez terminadas las lecturas, debe hacerse el registro diario de las baciloscopías, para su informe a la estrategia sanitaria nacional de prevención y control de tuberculosis. Utilizar una numeración correlativa anual (que empezará el 2 de enero y terminará el 31 de diciembre del mismo año, desde el número 1 hasta el último correspondiente).

El registro diario se lleva en un libro. El personal que realiza las baciloscopías tiene la responsabilidad de llenar el registro diario de las baciloscopías efectuadas y velará por la integridad y puesta al día de la información.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



- Para preparar los controles internos positivos se debe usar esputos con baja positividad (1+).
- Dejar los esputos por uno o más días a temperatura ambiente hasta que se licuen.
- Mezclar y dejar reposar por 20 min, luego agregar de 5 a 10 gotas de fenol y dejar actuar durante 1 hora.
- Realizar la cantidad necesaria de extendidos (puede ser 50), dejar secar a temperatura ambiente y fijar por calor.
- Realizar un chequeo de las láminas preparadas, coloreando unas cuantas láminas (por ejemplo 6) y reportando el promedio de BAAR observado.
- Guardar las láminas en cajas debidamente rotuladas. (Control positivo).
- Si no se recibe la cantidad suficiente de muestras positivas durante la rutina, se deberá solicitar a su laboratorio de referencia láminas ya fijadas o muestras de baja positividad para la preparación de los controles internos.

Para realizar **controles negativos**, seguir las siguientes recomendaciones:

- Asegurarse que el esputo a utilizar, sea realmente negativo.
- Seguir el mismo procedimiento anterior, excepto el paso de chequeo de láminas, ya que no es necesario.

Para el control de calidad de cada nuevo lote de colorantes, seguir las siguientes recomendaciones:

- El laboratorio que prepara un nuevo lote de colorantes, deberá realizar el control interno del lote antes de su distribución a su red.
- El laboratorio que procesa baciloscopías, deberá realizar el control de calidad de cada nuevo lote de colorantes que recibe, realizando la tinción de dos láminas positivas y dos negativas.
- Comprobar que los BAAR se observen completos e intensamente coloreados con fucsina fenicada, la coloración de fondo debe ser uniforme y de buen contraste. Si la lámina no es aceptable revisar los procedimientos.
- Registrar el resultado de control en el libro de preparación y control de reactivos.
- En caso los controles no sean satisfactorios, se deberá descartar el lote.

#### CONTROL DE CALIDAD EXTERNO:

La evaluación externa de la calidad de la baciloscopía, se trata de un sistema de evaluación retrospectiva y objetivamente, de resultados de distintos laboratorios mediante



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



## INFORME BACILOSCOPICO MENSUAL Y TRIMESTRAL

El consolidado mensual y trimestral debe llenarse en los registros conforme lo establece el manual de normas y procedimientos de la estrategia sanitaria nacional de prevención y control de la tuberculosis. El ítem diagnóstico total, comprende el total de baciloscopías realizadas para el diagnóstico. El número de baciloscopías positivas, comprende el número real de baciloscopías, considerando una baciloscopía positiva por paciente diagnosticado (Ej.: si al paciente se le realizó dos baciloscopías que fueron positivas, deberá considerarse sólo una en el informe).

El número de baciloscopías paucibacilares será reportado en el informe bacteriológico como positivo.

Es un proceso sistemático y eficaz para evaluar los resultados de la red de laboratorio y asegura que la información generada sea exacta y confiable; además representa un elemento indispensable para el funcionamiento eficaz de la Dirección de Prevención y control de TB (DPCTB) e incluye el proceso de recolección del esputo, preparación de los frotis, tinción, examen microscópico, registro e información de los resultados.

## CONTROL DE CALIDAD DE LAS BACILOSCOPÍAS

Dos de las principales actividades para al aseguramiento de la calidad de la baciloscopía son las siguientes:

- Control de calidad interno
- Evaluación externa de la calidad

## CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Es responsabilidad de los laboratorios que realizan baciloscopías. El responsable del laboratorio debe ejecutar el monitoreo interno sistemático, y continuo del trabajo rutinario.

Tomando en cuenta lo siguiente:

- Verificar el correcto desarrollo del proceso del laboratorio (pre-análisis, análisis, post-análisis). Si cuenta con equipos operativos, materiales y reactivos, asimismo considerando el buen desempeño del personal.

Para realizar **controles positivos**, seguir las siguientes recomendaciones:

programas organizados por un laboratorio de referencia. El objetivo principal es comparar los resultados entre laboratorios, de acuerdo con una norma de referencia. Se denomina también prueba de competencia.

Hay tres métodos que deben combinarse para evaluar el desempeño del laboratorio:

- a. Evaluación Directa
- b. Evaluación de Paneles de Láminas de Baciloscopías (Centro a la Periferia)
- c. Re-lectura - "doble ciego" o "Lotes" de una muestra de láminas de Baciloscopías (Periferia al Centro).

Los laboratorios locales deben conservar las láminas de las baciloscopías, para participar en la evaluación externa de la calidad, hasta que se haya seleccionado el tamaño de la muestra para su relectura.

Para la conservación de las láminas deben seguir las pautas siguientes:

- Quitar el aceite de inmersión a las láminas leídas, cubriendo cada lámina con un trozo de papel absorbente y dejar hasta el día siguiente.
- Evitar remover el remanente de aceite, frotando el extendido.
- Verificar la numeración de la lámina.
- Guardar las láminas en cajas porta láminas o conservar las láminas envueltas individualmente en papel, y luego en paquetes que agrupen las de un día o una semana, con un rótulo en el que figure la fecha de realización (Figura 28).
- No escribir los resultados de las láminas sobre este rótulo.
- Conservar las láminas en lugar seco y fresco.



Figura 28: Caja de láminas

### CONSERVACION Y LIMPIEZA DEL MICROSCOPIO

- El microscopio es un equipo óptico de alta precisión y debe ser tratado con mucho cuidado tanto en el aspecto mecánico como óptico.
- La inspección y limpieza del microscopio, antes y después de su uso, son hábitos que contribuyen a la buena conservación de este equipo.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



- Las partes ópticas y las lentes deben limpiarse cuidadosamente con un paño suave que no desprenda pelusa, nunca debe friccionarse el paño sobre la lente. No usar para la limpieza solventes, tales como: alcohol, xileno, benceno y acetona.
- El microscopio debe guardarse en su estuche de protección (con una bolsa conteniendo no menos de 0,5 kg. de *Silicagel* seco de color azul), para evitar la formación de hongos. En caso que el *Silicagel* se torne de color rosado cambiar por otro o calentar hasta que se torne azul para su reutilización.
- El personal de laboratorio nunca debe desarmar el microscopio para realizar limpieza o reparación. Este trabajo debe ser realizado por personal especializado con la finalidad de garantizar que el equipo mantenga su eficiencia y precisión.
- La superficie exterior de los oculares debe limpiarse diariamente. Recordar que tanto los párpados como las pestañas tienen grasa, y al apoyarlos sobre los oculares, las lentes pueden ensuciarse.
- El objetivo de inmersión debe limpiarse después de su uso, con papel lente, para eliminar el aceite de inmersión.
- Para la limpieza diaria del microscopio se requiere disponer del siguiente material:
  - Paño suave que no genera pelusa.
  - Papel lente o bien papel absorbente descartable.
  - Pera de goma, para eliminar el polvo.
  - Pincel fino.
  - Torunda.
  - Bolsa conteniendo no menos de 0,5 kg. de *Silicagel*.
- El mantenimiento preventivo debe ser programado de tal manera que no interfiera con el trabajo rutinario. Este debe ser realizado por personal especializado.

### ELIMINACION DE LOS MATERIALES CONTAMINADOS

- Los materiales contaminados (envases de esputo, aplicadores, papeles del área de trabajo) se deben recoger y colocar en la bolsa roja para material contaminado, para su esterilización en autoclave (a 121°C durante 1 hora), para el servicio de recolección y tratamiento de residuos.
- Si el tratamiento anterior no fuera posible, agregar igual volumen de hipoclorito de sodio al 1% al resto de las muestras no utilizadas, dejar los envases tapados hasta el día



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



siguiente, y luego eliminarlos con los desechos habituales del laboratorio para que sean tratados por el servicio de recolección de residuos del establecimiento de salud.

- Limpiar bien toda la superficie de la mesa de trabajo con hipoclorito de sodio al 1%. Si se tiene cabina de bioseguridad se recomienda que después de la desinfección con hipoclorito al 1%, retirar el exceso del desinfectante con alcohol de 70°, para evitar la corrosión del área de trabajo de la cabina. (13)

### **PROCEDIMIENTO POST ANALITICO:**

#### **VERIFICACION Y VALIDACION DEL RESULTADO DE LA BACILOSCOPIA: A CARGO DEL MEDICO PATOLOGO CLINICO:**

Coordinación y Supervisión de las etapas preanalítica, analítica y post-analítica del procedimiento de Baciloscopia (BK), para el Diagnóstico de Tuberculosis

#### **- En la etapa preanalítica y analítica**

- 1.- Supervisión del cumplimiento de los criterios de aceptación y rechazo de las muestras pulmonares y extrapulmonares.
- 2.- Supervisión del procedimiento de Baciloscopia (BK), según GPA

#### **- En la etapa post-analítica:**

- 3.- Supervisión del check list (diversos protocolos) que se utilizan para el procedimiento de baciloscopia (BK)
- 4.- Supervisión de los resultados registrados en el cuaderno de Registro diario de Baciloscopias.
- 5.- Revisión de los resultados del Control de Calidad Interno.
- 6.- Realizar la Correlación Clínico Laboratorial, revisando resultados anteriores y tipo de pruebas diagnósticas del paciente en el sistema Netlabv2.
- 7.- Validación de resultados en el sistema informático NETLABv2 del INS (si hubiera alguna observación se comunica al analista para la corrección respectiva).





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



### 6.3 INDICACIONES:

- Todas las personas Sintomáticas Respiratorias deben hacerse dos baciloscopías para determinar la presencia de bacilos acido-alcohol resistentes (BAAR) en sus pulmones. Se deben recolectar dos muestras de esputo durante un período de dos días: la primera muestra se recolecta inmediatamente después de identificar al paciente y la segunda muestra el día siguiente.
- Evaluar las indicaciones o condición del paciente que está anotada en la solicitud (HIV, diabético, rayos X anormal, etc.) y de acuerdo a ello derivar la muestra para cultivo y/o prueba de sensibilidad según corresponda.
- En caso de tener que derivar la muestra, tratar de hacerlo lo más pronto posible, en caso contrario, refrigerar la muestra y derivarla antes de las 48 horas
- Algunos pacientes no pueden expectorar para obtener la muestra de esputo. En estos casos está indicado, realizar diferentes procedimientos como: • Esputo inducido (en ancianos o en personas que no pueden expectorar). • Aspirado gástrico (en niños menores de 5 años). • Broncoscopia (en pacientes adultos BK negativos para definir diagnóstico)

### 6.4 CONTRAINDICACIONES: NO APLICA

### 6.5 COMPLICACIONES: NO APLICA

### 6.6 RECOMENDACIONES:

Las siguientes son las recomendaciones de la Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis (16)

16. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis. Centro Cochrane Iberoamericano, coordinador. Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut (AIAQS) de Catalunya; 2009. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AATRM N° 2007/26.





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

RECOMEN- DACION	COMENTARIOS	FUERZA O CALIDAD DE LA RECOMENDACION
<p>Qué rendimiento diagnóstico tiene el examen microscópico del esputo (baciloscopia) y sus diferentes técnicas para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar?</p>		
<b>Diagnóstico de la tuberculosis pulmonar activa</b>		
1.	Se debe sospechar clínicamente la tuberculosis pulmonar en un paciente con tos de más de dos semanas de duración, expectoración hemoptoica y fiebre de origen desconocido.	FUERTE
2.	A todo paciente con tos persistente de más de tres semanas de duración se debe practicar una radiografía de tórax para descartar, entre otras patologías, la tuberculosis pulmonar	FUERTE
3.	En los niños en contacto con un paciente bacilífero y una prueba de la tuberculina positiva con síntomas clínicos y una radiografía de tórax normal se puede considerar de manera individualizada la realización de una tomografía computarizada. En los niños en contacto con un paciente bacilífero y una prueba de la tuberculina positiva sin síntomas clínicos y una radiografía de tórax dudosa se puede considerar de manera individualizada la realización de una tomografía computarizada	DEBIL
4.	En los pacientes con sospecha clínica y radiológica de tuberculosis pulmonar, se deben obtener al menos tres muestras de secreción respiratoria (esputo), preferiblemente por la mañana, que se deben enviar con la mayor brevedad al laboratorio de microbiología para la realización de baciloscopia, cultivo de la muestra, identificación y pruebas de sensibilidad.	FUERTE
5.	En los casos en que no se pueda obtener una muestra de esputo, se recomienda la obtención de la muestra a través de la inducción de esputo o bien mediante aspirado gástrico. La fibrobroncoscopia se recomienda en aquellos casos en que los demás métodos no han sido eficaces.	DEBIL
6.	La sospecha clínica y radiológica de tuberculosis pulmonar es suficiente para iniciar tratamiento, sin esperar el resultado del cultivo, pero es aconsejable que las muestras de esputo se obtengan antes del inicio del mismo.	DEBIL
7.	Se recomienda el procesamiento por centrifugación y homogeneización química de las muestras de esputo obtenidas.	DEBIL
8.	Se recomienda realizar métodos de tinción clásicos además de los métodos de fluorescencia para la evaluación de la baciloscopia del esputo.	DEBIL
9.	Se recomienda el cultivo en métodos automatizados en medio líquido además de los métodos clásicos en medio sólido.	DEBIL





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

RECOMEN- DACION	COMENTARIOS	FUERZA O CALIDAD DE LA RECOMENDACION
10.	Las técnicas de diagnóstico molecular o de bacteriófagos se deben considerar como técnicas de apoyo a las técnicas convencionales como la baciloscopia o el cultivo	DEBIL
11.	En los casos de una elevada sospecha clínica, hay que considerar la realización de técnicas moleculares de detección directa de muestra conjuntamente con los métodos clásicos de cultivo	DEBIL
12.	Para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar se recomienda no utilizar los métodos de diagnóstico serológico.	FUERTE
13.	Las técnicas de diagnóstico molecular se deben realizar sólo en laboratorios reconocidos y con sistemas de control de calidad acreditados	FUERTE
<b>Diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar</b>		
14.	Es necesario un alto grado de sospecha clínica para no retardar el diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar.	FUERTE
15.	Se debe valorar siempre la posibilidad de tuberculosis extrapulmonar en un paciente que presenta un síndrome constitucional (astenia, anorexia y pérdida de peso), fiebre, sudoración nocturna con signos y síntomas de afectación orgánica local y que presenta una alteración de la inmunidad o ha sufrido una tuberculosis pulmonar.	FUERTE
16.	Se recomienda obtener, siempre que sea posible, una muestra adecuada del lugar afectado, si es necesario a través de biopsia o punción-aspiración con aguja fina, para el análisis histológico, la baciloscopia y el cultivo de la misma.	FUERTE
17.	Es aconsejable depositar la muestra obtenida en un recipiente seco y enviar al laboratorio la muestra para su procesamiento, con la mayor brevedad posible. No se debe guardar toda la muestra en formol dado que puede destruir los bacilos.	FUERTE
18.	Se recomiendan distintas pruebas de imagen, dependiendo del órgano o sistema afectado, para el diagnóstico de sospecha de tuberculosis extrapulmonar. Además, se debe realizar siempre una radiografía de tórax para descartar el componente pulmonar.	FUERTE
19.	Además del estudio microbiológico e histológico de la muestra, se recomienda realizar alguna técnica de diagnóstico rápido en aquellos casos en los que el inicio de un tratamiento deba ser precoz, como en los casos de meningitis tuberculosa o tuberculosis diseminada grave	FUERTE





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



## 6.7 INDICADORES DE EVALUACION (VER ANEXO 7)

- a. **Porcentaje de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas:** Medición del N° de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, en relación al N° total de Baciloscopías de Diagnóstico, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular. Indicador (1)
- b. **Porcentaje de Baciloscopías de Control de Tratamiento Positivas:** Medición del N° de Baciloscopías de Control de Tratamiento Positivas, en relación al N° total de Baciloscopías de Control de Tratamiento, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular. Indicador (2)
- c. **Porcentaje de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas de Bajo Grado:** Medición del N° de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas de Bajo Grado, en relación al N° total de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular. Indicador (3)
- d. **Tiempo de respuesta (Oportunidad):** Medición del N° de Baciloscopías con resultados emitidos a las 24 Hrs., en relación al N° total de Baciloscopías, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular. Indicador (4)

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Salud Pública. Laboratorio Nacional de Referencia de Micobacterias. Manual de Procedimientos de Baciloscopia para el diagnóstico de Tuberculosis. 2019
2. OPS/OMS PAHO, Temas de salud: TUBERCULOSIS.  
<https://www.paho.org/es/temas/tuberculosis>
3. Resolución Ministerial N° 247-2018 / MINSA. Documento Técnico Plan de Intervención de Prevención y Control de Tuberculosis en Lima Metropolitana y Regiones priorizadas de Callao, Ica, La libertad y Loreto, 2018-2020.  
[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/02/969037/rm\\_247-2018-minsa.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/02/969037/rm_247-2018-minsa.pdf)
4. Reporte Global de la Tuberculosis 2020. Organización Mundial de la Salud. OMS.  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
5. La Estrategia Fin de la Tuberculosis. Organización Mundial de la Salud. OMS.  
[https://www.who.int/tb/Spanish\\_EndTBStrategy.pdf](https://www.who.int/tb/Spanish_EndTBStrategy.pdf)



PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

6. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. ScieloPeru. Lima 2017. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-46342017000200021](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000200021)

7. Salud en las Américas. Resumen: panorama regional y perfiles de país. Publicación Científica y Tecnológica. 642. Organización Mundial de la Salud. OMS. <https://www.paho.org/salud-en-las-americas-2017/wp-content/uploads/2017/09/Print-Version-Spanish.pdf>

8. Microbiología de la tuberculosis. Anales del Sistema Sanitario de Navarra vol. 30 2007. Revista Scielo. [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272007000400006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272007000400006)

9. Diagnóstico Microbiológico. Koneman Editorial Médica Panamericana S.A. 2007.

10. Organización Panamericana de la Salud. Manual Para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis. Parte 1 Baciloscopía. Normas y Guía Técnica. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. 2008.

11. Organización Panamericana de la Salud. Organismo Andino de Salud. Convenio Hipólito Unanue. Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la región de las Américas": Manual de Algoritmos para el Diagnóstico de la Tuberculosis. 2018.

12. NTS N° 153-MINSA/2019/INS: "Norma Técnica de Salud sobre Preparación, Embalaje y Documentación para el Transporte Seguro de Sustancias Infecciosas"

13. OPS. Organismo Andino de Salud. Convenio Hipólito Unanue. Programa "Fortalecimiento de la Red de Laboratorios de Tuberculosis en la región de las Américas". **Parte 1: Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis.** 2da. Edición. 2018. <https://www.paho.org/documentos>

14. **Tuberculosis.** Biblioteca Nacional de Medicina. <https://medlineplus.gov/spanish/tuberculosis.html>

15. Misleidis Sardiñas y Cols. **Importancia del control de la calidad de la baciloscopía en los laboratorios de diagnóstico de tuberculosis.** Rev. chil. infectol. vol.33 no.3 Santiago jun. 2016, <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000300005>

16. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis. Centro Cochrane Iberoamericano, coordinador. **Guía de Práctica Clínica sobre el Diagnóstico, el Tratamiento y la Prevención de la Tuberculosis.** Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agencia d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut (AIAQS) de Catalunya; 2009. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AATRM N° 2007/26: Cochrane.org. [https://es.cochrane.org/guiatuberculosis\\_reducidoPDF](https://es.cochrane.org/guiatuberculosis_reducidoPDF)



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1

#### INSTRUCTIVO: SOLICITUD PARA INVESTIGACION BACTERIOLÓGICA EN TUBERCULOSIS

1. Escribir el nombre de la Región y/o sub región y el establecimiento de Salud.
2. Filiación del paciente: Anotar apellidos y nombres, edad, sexo, historia clínica.
3. Marcar con un aspa (x) el tipo de muestra. Si es otra diferente a esputo, mencionar en la línea punteada.
4. **Antecedentes de tratamiento:** Al momento de la identificación del sintomático respiratorio interrogar al paciente si anteriormente ha recibido medicamentos antituberculosos y durante cuánto tiempo (anotar observaciones). - **Nunca Tratado:** Marca con un aspa (x) si no recibió tratamiento anteriormente (virgen al tratamiento). - **Antes Tratado:** Marca con un aspa (x) en la categoría RECAIDA si el SR identificado recibió un tratamiento completo exitoso (curado) y existe la sospecha de recaída al solicitar la baciloscopía; o marcar con un aspa (x) en la categoría ABANDONO si el paciente no concurrió a recibir tratamiento previo por más de 30 días consecutivos.
5. **Para diagnóstico.** - Se consideran dos categorías de diagnóstico:
  - **Sintomático respiratorio (SR)**, persona que tiene tos y expectoración por + de 15 días.
  - **Rx. Anormal**, persona que presenta radiografía de pulmones con imagen sospechosa de TBC y con muestras de esputo iniciales negativas, debiendo ser cultivada para investigar micobacterias. Ambas categorías son excluyentes. 1ra. Muestra , 2da. Muestra.
6. **Para control.** - Marcar con un aspa (x) el mes de tratamiento actual. En caso de retratamiento, anotar en la línea punteada el mes correspondiente.
7. **N° de caso.** - Es el mismo número de orden que encontrará en el Libro de Registro y Seguimiento de pacientes, para aquellos que están en tratamiento.
8. Escribir el nombre de la persona y fecha en que solicita la baciloscopía.

#### RESULTADOS:

- Se marcará en los casilleros correspondientes el resultado: si es positivo marcar el número de cruces (+) (++) (+++) con tinta roja y negativo (-) con tinta azul o negra, anotando el N° de Registro que es el mismo N° de Orden del Libro de Registro de Muestras para Investigación Bacteriológica en Tuberculosis, y la fecha correspondiente, tanto para el caso de baciloscopía como para Cultivo.

- Escribir el nombre del laboratorio y la fecha en que se procesa la muestra.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



## ANEXO 2

### PREPARACION DE LOS REACTIVOS PARA LA TECNICA DE ZIEHL NEELSEN

1. Para preparar un litro de fucsina fenicada al 0.3%, se necesitan 3 g de fucsina básica, 100 mL de etanol 95° y 50 g de cristales de fenol. En un beaker de 1 litro, disolver 50 g de cristales de fenol en 100 ml de etanol. Adicionarle los 3 g de fucsina básica, mezclando bien hasta disolver. Agregar el agua destilada hasta completar un litro. Guardar la solución en frasco color ámbar, con buen cierre. Rotular con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento.
2. Para preparar un litro de azul de metileno al 0.1%, disolver 1 g de azul de metileno en 1000 mL de agua destilada y agitar suavemente. Se guarda la solución resultante en una botella de color ámbar. Se rotula con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento.
3. Para preparar un litro de solución decolorante al 3%, se requiere 30 mL de ácido clorhídrico y 970 mL de etanol 95°. Agregar siempre el ácido al etanol, suavemente, y no al revés ya que se puede provocar salpicaduras por la intensa generación de calor que se produce cuando se invierte el proceso. Con la pipeta se deja escurrir el ácido clorhídrico por las paredes del matraz, que contiene el etanol, y se agita suavemente. Se guarda la solución resultante en una botella de color ámbar. Se rotula con el nombre del reactivo y con las fechas de preparación y vencimiento.

**Importante:** Cada vez que las soluciones colorantes sean trasvasadas a los pequeños frascos cuentagotas que se emplean para la tinción, deben filtrarse; esto es especialmente necesario para la fucsina fenicada, porque con el tiempo se forman pequeños cristales que son causas de error al hacer la lectura de las láminas. Los frascos cuentagotas y sus tapas deben ser lavados con todo el cuidado cada vez que se renueve su contenido.

**Conservación:** Los reactivos deben conservarse en frascos de color ámbar y debidamente rotulados (nombre del reactivo, fecha de preparación y fecha de vencimiento). Almacenar a temperatura ambiente por un periodo no mayor a 12 meses. Se recomienda evaluar en cada control de calidad interno, los colorantes del lote usado, cualquier variación que se presente, se recomienda preparar nuevo lote.



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

\*SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR\*



### ANEXO 3

## PARAMETROS PARA LA PROGRAMACIÓN DEL MÓDULO INDIVIDUAL

La Programación por Módulo Individual para el PeT, debe realizarse todos los años en el mes de Julio, en la primera quincena e inmediatamente después remitir al nivel correspondiente para su consolidación.

### I. ATENDIDOS:

Enfermos con Tuberculosis (E), programar según la prevalencia local por 100 habitantes y con el 100% de la población.

### II. ATENCIONES:

Baciloscopías de Diagnóstico: 15 por enfermo y 3 de control.

### III. INSTRUMENTOS:

Horas Baciloscopista: Rendimiento 5 Baciloscopías por hora.

### IV. NECESIDADES DEL LABORATORIO PARA BACILOSCOPIAS:

1. Envases para esputo, se requiere 18 por enfermo o 1.5 por S.R.
2. Aplicadores de madera, en promedio 5 por enfermo.
3. Láminas portaobjeto: 10 láminas por enfermo, considerando que el 40% se rompen, rayan o son positivos.
4. Aceite de inmersión, se requiere 0.36 cc. por enfermo o por cada 10 S.R.
5. Fucsina básica, se requiere 0.10 gr. por enfermo o por 10 S.R.
6. Fenol cristalizado, 1.98 gr. por enfermo o por cada 10 S.R.
7. Alcohol 95°, 78.84 cc. por enfermo o por cada 10 S.R.
8. Ácido Clorhídrico, 2.16 cc. por enfermo o por cada 10 S.R.
9. Azul de Metileno, 0.05 gr. por enfermo o por cada 10 S.R.





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



#### ANEXO 4

### DESCARTE DE LAS LÁMINAS DE BACILOSCOPIAS

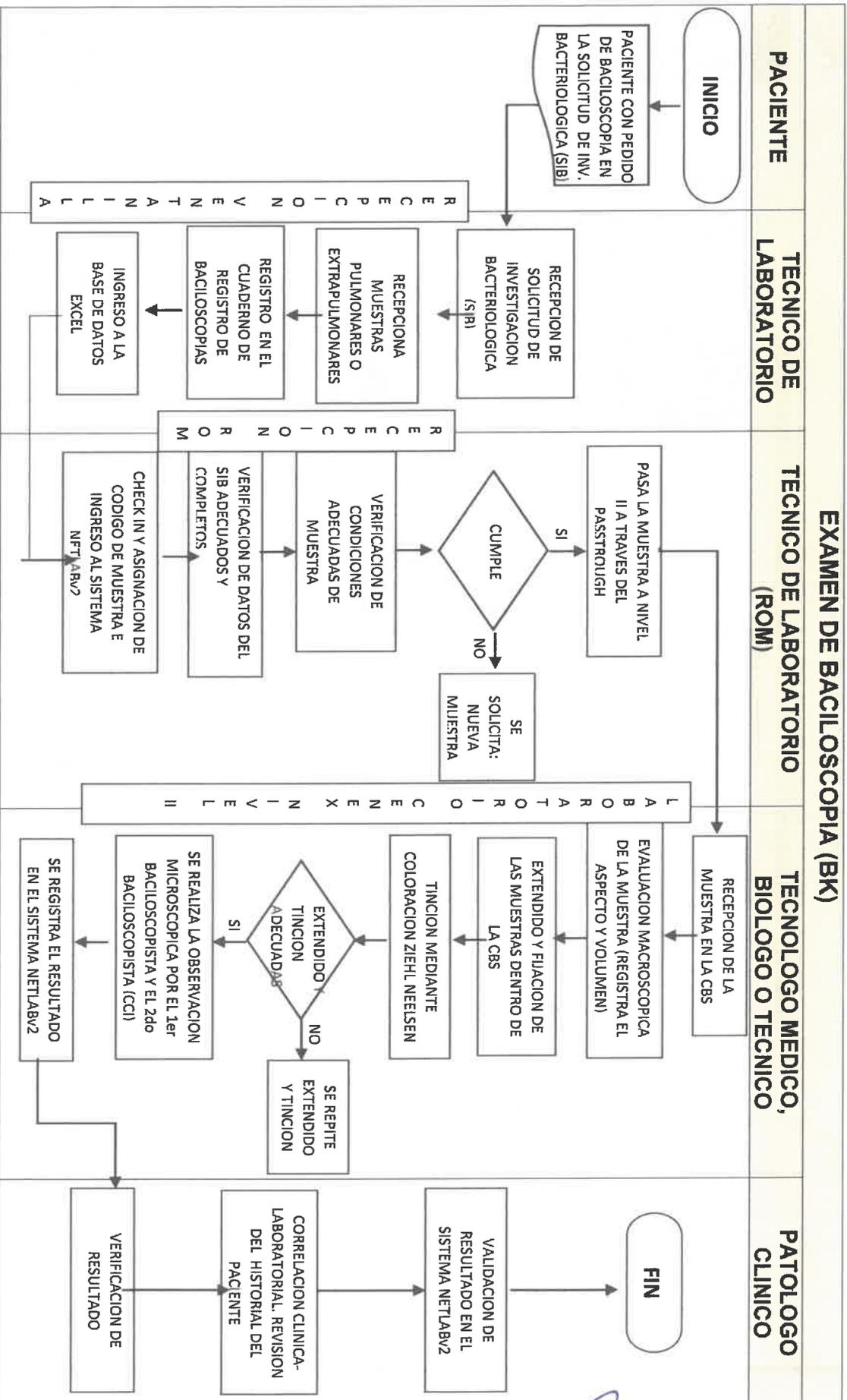
- Los residuos punzocortantes deberán ser descartados en el mismo lugar de generación.
- Una vez escogidos las láminas de baciloscopias para el control de calidad de doble ciego, las restantes deberán de ser colocadas en un recipiente para material punzocortante.
- Estos recipientes deben ser resistentes a los cortes y las perforaciones y tener una tapadera que encaje perfectamente; no deben llenarse por completo.
- Cuando el recipiente este lleno hasta las tres cuartas partes, se colocarán en recipientes destinados a residuos infecciosos para ser trasladados a disposición final.





ANEXO 5: FLUJOGRAMA

EXAMEN DE BACILOSCOPIA (BK)





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



ANEXO 6. FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE BACILOSCOPIA PARA EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

## ANEXO 07

## FICHA DEL INDICADOR (1)

PORCENTAJE DE BACILOSCOPIAS DE DIAGNOSTICO POSITIVAS	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición del Número de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas en relación al total de Baciloscopías de Diagnóstico, que se procesa en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, del total de Baciloscopías de Diagnóstico, que se procesan en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
FORMULA DE CALCULO	$\frac{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías de Diagnóstico}} \times 100$
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
PERIODICIDAD	Trimestral.
INTERPRETACION	Frecuencia de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del HNHU
ESTANDAR	Definir a nivel local

## FICHA DEL INDICADOR (2)

EXAMEN DE BACILOSCOPIA (BK)	
PORCENTAJE DE BACILOSCOPIAS DE CONTROL DE TRATAMIENTO POSITIVAS	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición del Número de Baciloscopías de Control de Tratamiento Positivas en relación al total de Baciloscopías de Control de Tratamiento, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de Baciloscopías de Control de Tratamiento Positivas, del total de Baciloscopías de Control de Tratamiento, procesadas, en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
FORMULA DE CALCULO	$\frac{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías de Control de Tratamiento Positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías de Control de Tratamiento}} \times 100$
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
PERIODICIDAD	Trimestral.
INTERPRETACION	Frecuencia de Baciloscopía de Control de Tratamiento Positivas, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del HNHU.
ESTANDAR	5 a 10%

58





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

## FICHA DEL INDICADOR (3)

EXAMEN DE BACILOSCOPIA (BK)	
PORCENTAJE DE BACILOSCOPIAS DE DIAGNOSTICO POSITIVAS DE BAJO GRADO	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición del Número de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas de bajo grado, en relación al total de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, que se procesa en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas de bajo grado, del total de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
FORMULA DE CALCULO	$\frac{\text{N}^\circ \text{ total Baciloscopías de Diagnóstico Positivas de bajo grado}}{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías de Diagnóstico Positivas}} \times 100$
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
PERIODICIDAD	Trimestral.
INTERPRETACION	Frecuencia de Baciloscopía de Diagnóstico Positivas de bajo grado, procesadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del HNHU
ESTANDAR	30 - 50%

## FICHA DEL INDICADOR (4)

TIEMPO DE RESPUESTA (OPORTUNIDAD) DEL EXAMEN DE BACILOSCOPIA (BK)	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición del Número de Baciloscopías con resultados emitidos a las 24 horas, en relación al Número de Baciloscopías realizadas, en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
OBJETIVO	Determinar el Porcentaje de Baciloscopías con resultados emitidos a las 24 horas, del total de Baciloscopías realizadas en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular
FORMULA DE CALCULO	$\frac{\text{N}^\circ \text{ total Baciloscopías con resultados emitidos antes de 24 Hrs}}{\text{N}^\circ \text{ total de Baciloscopías realizadas}} \times 100$
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular.
PERIODICIDAD	Trimestral.
INTERPRETACION	Oportunidad en la respuesta de Baciloscopía, con resultados emitidos antes de las 24 Hrs, en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del HNHU
ESTANDAR	> 95%





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

## ANEXO 08

## FORMATO DE DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL

Hospital Nacional Hipólito Unanue	DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR EXAMEN DE BACILOSCOPIA (BK) CPMS 87115	Versión 2 FEBRERO- 2023
<p><b>Definición:</b> Es la técnica de rutina y herramienta fundamental para el diagnóstico presuntivo de tuberculosis, que debe emplearse en toda muestra tanto de procedencia pulmonar como extrapulmonar. Sabiéndose que La técnica de Ziehl-Neelsen", es una coloración diferencial útil en la identificación de Micobacterias, aunque no permite la diferenciación de distintas especies.</p> <p><b>Objetivo:</b> Establecer los procedimientos para la realización de Bacilosco피아 mediante la técnica de Ziehl Neelsen</p> <p><b>Requisitos:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Solicitud de investigación bacteriológica .</li> <li>2. Muestra de Espudo, lavado bronco alveolar, líquidos biológicos, orina, heces, muestras obtenidas por biopsia, etc.</li> <li>3. <b>Requisitos:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Entregar al paciente, el envase (deberá ser de boca ancha, de aproximadamente 5 cm de diámetro y 5 cm de altura, con tapa rosca) e indicarle al paciente que anote su nombre completo.</li> <li>- Indicarle al paciente cuál es el ambiente de recolección inmediata de esputo. Este lugar debe tener buena ventilación</li> <li>- La muestra debe provenir del árbol bronquial y debe ser obtenida después de un esfuerzo de tos. Una Muestra de esputo de buena calidad: tiene aproximadamente 3 a 5 mL y es generalmente espesa y mucoide.</li> </ul> </li> </ol>		
N° Actividad	Descripción de actividades	Responsable
<b>A CARGO DEL PERSONAL TÉCNICO, TECNÓLOGO MÉDICO O BIÓLOGO</b>		
1	El personal deberá utilizar obligatoriamente el EPP adecuado. Revisar que el sistema de ventilación, tanto en el ambiente de recepción de muestras como en el ambiente de Bacilosco피아, cumplan con las medidas de Bioseguridad adecuadas	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
2	Revisar las condiciones ambientales del laboratorio. La temperatura (que debe estar registrada) se encuentre entre 18 a 32 °C y la humedad entre 20 a 80 % RH (humedad relativa) ver anexo 10	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

3	Revisar las condiciones de los equipos que se utilizarán en la Baciloscopía: <b>Cabina de Bioseguridad, Centrifuga de tubos, Microscopio, Refrigeradora</b>	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
4	Realizar el mantenimiento diario, semanal, quincenal, mensual, bimestral o trimestral, según corresponda (ver anexo 09)	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
5	Verificar el estado y Cantidad de insumos, material y reactivos para el proceso de las baciloscopias	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
6	<b>Recepción:</b> Verificar que los frascos de las muestras no tengan derrames. En caso de derrames solicitar nueva muestra.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
7	Evaluar condiciones, calidad y cantidad de muestra. Que estén bien rotuladas, y que coincidan los datos con los de la solicitud de investigación bacteriológica. Luego son codificadas y se genera la hoja de trabajo. Se registra en el Cuaderno de Registro diario de Investigación bacteriológica de Tuberculosis	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
8	En el Sistema Netlab: Generar los <b>códigos de orden</b> de cada muestra. Registrar los datos de la solicitud bacteriológica. Luego generar los <b>códigos de muestra</b> . Se transcribe estos datos en la base de datos Excell	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
9	El personal del área de Baciloscopía (ver <b>Anexo 11</b> ) se dirige al <b>Pass Through</b> , retira las bandejas con muestras hacia la mesa de trabajo, las prepara y las ordena. Luego se dirige a la Cabina de Bioseguridad (CBS) e inicia sus actividades, en este equipo.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
10	Colocar papel plastificado en la mesa de la CBS. Ordenar las muestras según orden correlativo. Para c/mx, enumerar una lámina que debe ser el mismo número asignado en la solicitud y colocarla delante de la muestra. <b>Extendido:</b> Destapar cuidadosamente el envase, evitando la formación de aerosoles. Tomar el palillo y seleccionar la partícula más densa o purulenta de la muestra y enrollarla en el aplicador. Colocar en el portaobjeto, homogenizar y extender de acuerdo al protocolo..	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio





PERÚ

Ministerio  
de SaludHospital  
Nacional Hipólito  
UnanueDPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"

11	Colocar los extendidos en un soporte y dejar secar dentro de la CBS. Finalizado los extendidos, limpiar la superficie de la mesa de trabajo de la CBS, con papel toalla embebido en alcohol al 70%. Conservar las muestras en Refrigeración durante 24 horas o hasta su posterior derivación a otros procedimientos.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
12	Las muestras que no son derivadas a ningún otro procedimiento adicional son autoclavadas para su posterior eliminación de acuerdo al Manual de tratamiento de residuos sólidos.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
13	<b>Coloración:</b> Fuera de la CBS, se colocan 12 láminas con muestras extendidas en portálaminas. Luego Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con el colorante <b>Fucsina fenicada</b> . Calentar con la llama de un hisopo humedecido en alcohol hasta la emisión de vapores, por 03 veces. Dejar con este colorante por un tiempo mínimo de 5 minutos. Eliminar el colorante y lavar.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
14	Cubrir la totalidad de la superficie del extendido, con <b>Solución de Alcohol - ácido</b> , durante 3 minutos. Enjuagar con agua. Cubrir la superficie del extendido con el colorante <b>Azul de Metileno</b> , durante 1 minuto. Eliminar el colorante y lavar con agua. Limpiar la parte inferior de las láminas con algodón	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
15	<b>Lectura:</b> Colocar sobre el extendido, una gota de <b>Aceite de inmersión</b> . Usando el objetivo de 10X y el objetivo de 100X, enfocar la muestra y realizar la lectura de acuerdo a protocolo.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
16	Al término de la lectura, retirar la lámina de la platina del microscopio, limpiar el exceso de aceite del objetivo de inmersión, con <b>Papel lente</b> . Repetir este procedimiento al término de la lectura de cada lámina. Finalmente, dejar las láminas en un <b>Papel absorbente</b> , hasta lograr retirar el aceite de inmersión y luego guardarlas.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
17	<b>Registro de resultados:</b> Una vez terminada la lectura de láminas, se registra en el Cuaderno de registro diario de baciloscopías y en la Solicitud bacteriológica. Asimismo se llena el formato estadístico HIS.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



18	Programar los controles de calidad interno y externo. El Control de calidad interno se realiza diariamente. El Control de calidad externo se realiza trimestralmente.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
19	Registrar los resultados en el Sistema Informático NetLabv2	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio
<b>A CARGO DEL PERSONAL PATOLOGO CLINICO:</b>		
A	Supervisión del check list (diversos protocolos) que se utilizan para el procedimiento de Baciloscopía (BK).	Patólogo Clínico
B	Supervisión de los resultados registrados en el cuaderno de Registro diario de baciloscopías.	Patólogo Clínico
C	Revisión de los resultados del Control de Calidad Interno.	Patólogo Clínico
D	Realizar la Correlación Clínico Laboratorial, revisando resultados anteriores y tipo de pruebas diagnósticas del paciente en el sistema Netlabv2.	Patólogo Clínico
E	Validación de los Resultados en el Sistema NETLABV2 a las 24 horas de recibida la muestra. (si hubiera alguna observación se comunica al analista para la respectiva corrección).	Patólogo Clínico





ANEXO 09

FACTORES DE PRODUCCION DEL PROCEDIMIENTO POR ACTIVIDAD

Descripción de actividades	RR.HH	Insumos		Equipamiento	Infraestructura (ambiente)	Tiempo
		Fungible	No fungible			
<b>A CARGO DEL PERSONAL TECNICOLOGO MEDICO, BIOLOGO O TECNICO DE LABORATORIO:</b>						
1). El personal deberá utilizar obligatoriamente el EPP adecuado. Revisar que el sistema de ventilación, tanto en el ambiente de recepción de muestras como en el ambiente de Baciloscopia, cumplan con las medidas de Bioseguridad adecuadas	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bata desc.</li> <li>Respirador N95</li> <li>Guantes</li> <li>Protector ocular</li> </ul>			Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular	10 min
2) Revisar las condiciones ambientales del laboratorio; que la temperatura (que debe ser registrada) se encuentre entre 18 a 32 °C y la humedad entre 20 a 80 % RH (humedad relativa)	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio		Termohigrómetro		Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular	5 min
3) Revisar las condiciones de los equipos utilizados en la baciloscopia: <b>Cabina de Bioseguridad (CBS-Ver Anexo 11)</b> , Centrífuga de tubos, Microscopio, Refrigeradora	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio			<ul style="list-style-type: none"> <li>CBS</li> <li>Centrífuga de tubos</li> <li>Microscopio</li> <li>Refrigeradora</li> </ul>	Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular	20 min





PERÚ  
Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, INMUNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR"



<p>4) Realizar el mantenimiento diario, semanal, mensual, bimestral o trimestral, de la CBS (ver check list - Anexo 10)</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cabina de Bioseguridad</li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>60 min (según corresponda)</p>
<p>5) Verificar el estado y Cantidad de insumos, material y reactivos</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frascos</li> <li>• Colorantes</li> <li>• Láminas portaobjetos</li> <li>• Aceite de inmersión</li> </ul>		<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>10 min</p>
<p>6) <b>Recepción:</b> Verificar que los frascos de las muestras no tengan derrames. En caso de derrames se solicita nueva muestra.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frascos</li> </ul>		<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>15 a 20 min (por serie de 12 muestras)</p>
<p>7) Evaluar condiciones, calidad y cantidad de muestra. Que estén bien rotuladas, y que coincidan los datos con los de la solicitud de investigación bacteriológica. Luego son codificadas y se genera la hoja de trabajo. Se registra en el cuaderno de Registro de pacientes para investigación bacteriológica de Tuberculosis.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solicitud de Investigación bacteriológica</li> </ul>		<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>50 a 60 min (por serie de 12 muestras)</p>





<p>8) En el sistema Netlabv2, Generar los códigos de orden de cada muestra y Registrar los datos de solicitud bacteriológica. Generar los códigos de muestra. Transcribir estos códigos en la base de datos Excell</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo o Técnico de Laboratorio</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Computadoras</li> </ul>		<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>50 a 60 min (por serie de 12 muestras)</p>
<p>9) El personal del área de Baciloscopia (ver Anexo 11) se dirige al Pass Through, retira las bandejas con muestras hacia la mesa de trabajo, las prepara y las ordena. Luego se dirige a la Cabina de Bioseguridad e inicia sus actividades, colocando en la mesa de la CBS, papel plastificado</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo o Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Papel plastificado</li> <li>• Alcohol al 70%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bandeja de metal o plástico, para muestras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Centrifuga de tubos</li> <li>• Cabina de Bioseguridad</li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>30 a 40 min</p>
<p>10) Ordenar las muestras según orden correlativo. Para c/rnx, enumerar una lámina que debe ser el mismo número asignado en la solicitud y colocarla delante de la muestra. <b>Extendido:</b> Destapar cuidadosamente el envase, evitando la formación de aerosoles. Tomar el palillo y seleccionar la partícula más densa o purulenta de la muestra y enrollarla en el aplicador. Colocar en el portaobjeto, homogenizar y extender de acuerdo al protocolo.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo o Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Láminas portaobjeto</li> <li>• Palillos</li> <li>• Solución de hipoclorito de sodio al 1%</li> </ul>			<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>30 a 45 min (por serie de 12 muestras)</p>





PERÚ  
Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



<p>11) Colocar los extendidos en un soporte y dejar secar dentro de la CBS. Finalizado los extendidos, limpiar la superficie de la mesa de trabajo de la CBS, con papel toalla embebido en alcohol al 70%. Conservar las muestras en refrigeración durante 24 horas hasta su posterior derivación a otros procedimientos.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Papel toalla</li> <li>• Alcohol al 70%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Refrigerad ora</li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>30 a 45 min (por serie de 12 muestras)</p>
<p>12) Las muestras que no son derivadas a ningún otro procedimiento adicional son autoclavadas para su posterior eliminación de acuerdo al manual de tratamiento de residuos sólidos</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Autoclave</li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>60 min (por lote de residuo)</p>
<p>13) <b>Coloración:</b> Fuera de la CBS, se colocan 12 láminas con muestras extendidas en portálaminas. Luego son fijadas con la ayuda de un hisopo humedecido en alcohol. Cubrir la totalidad de la superficie del extendido con el colorante <b>Fucsina Fenicada</b>. Calentar con la llama de un hisopo humedecido en alcohol hasta la emisión de vapores, por 03 veces. Dejar con este colorante por un tiempo mínimo de 5 minutos. Eliminar el colorante y lavar.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<p><b>Colorante:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fucsina fenicadas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soporte de varilla de vidrio</li> <li>• Pinza de metal</li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>10 a 15 min (por serie de 12 láminas)</p>





<p>14) Cubrir la totalidad de la superficie del extendido, con <b>Solución de Alcohol Acido</b>, durante 3 minutos. Enjuagar con agua. Cubrir la superficie del extendido con el <b>colorante Azul de Metileno</b>, durante 1 minuto. Eliminar el colorante y lavar con agua. Limpiar la parte inferior de las láminas con algodón.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Solución Alcohol-Acido</b></li> <li>• <b>Colorante: Azul de metileno</b></li> </ul>			<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>5 a 10 min (por serie de 12 láminas)</p>
<p>15) <b>Lectura:</b> Colocar sobre el extendido, una gota de <b>Acetate de Inmersión</b>. Usando el objetivo de 10X y el objetivo de 100X, enfocar la muestra y realizar la lectura de acuerdo a protocolo.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Acetate de Inmersión</b></li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Microscopio</b></li> </ul>	<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>60 min (por serie de 12 láminas)</p>
<p>16) Al término de la lectura, retirar la lámina de la platina del microscopio, limpiar el exceso de acetate del objetivo de inmersión, con <b>Papel Lente</b>. Repetir este procedimiento al término de la lectura de cada lámina. Finalmente, dejar las láminas en un <b>Papel Absorbente</b>, hasta lograr retirar el acetate de inmersión y luego guardarlas.</p>	<p>Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Papel lente</b></li> <li>• <b>Papel absorbent e</b></li> </ul>			<p>Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular</p>	<p>1 min después de cada lámina</p>





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue



"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

Ministerio de Salud	Hospital Nacional Hipólito Unanue	DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA	"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"	Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	2 min por cada resultado
17) Registro de Resultados: Una vez terminada la lectura de láminas, deberá ser registrada en el Cuaderno de Registro Diario de Baciloscopías y en la solicitud bacteriológica. Además debe ser llenado el formato estadístico HIS	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio	• Cuaderno de registro diario de baciloscopias		Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	2 min por cada resultado
18) Programar los controles de calidad interno y externo. Luego del Control de Calidad Interno, que se realiza diariamente, El control de calidad externo se realiza en forma trimestral.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio			Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	5 min por cada lámina
19) Registrar los resultados en NetLabv2.	Tecnólogo Médico, Biólogo ó Técnico de Laboratorio			Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	1 a 2 min por cada resultado
<b>A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLINICO:</b>					
A) Supervisión de la ckeck list (diversos protocolos) que se utilizan para el procedimiento de baciloscopia (BK)	Patólogo clínico		• Protocolos • Check list	Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	10 min
B) Supervisión de los resultados registrados en el cuaderno de Registro diario de Baciloscopías.	Patólogo clínico		• Cuaderno de Registro de Baciloscopías	Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	10 min





PERÚ  
Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMÍA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



## ANEXO 10 PROTOCOLO DE MANTENIMIENTO DE LA CABINA DE BIOSEGURIDAD

### Check list de Mantenimiento de Cabina de Bioseguridad

Marca: \_\_\_\_\_ Modelo: \_\_\_\_\_ Nº Serie \_\_\_\_\_  
 Código Patrimonial \_\_\_\_\_ Mes: \_\_\_\_\_ Año: \_\_\_\_\_

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
<b>DIARIO</b>																																
Verificar el funcionamiento del panel de control (pantalla LCD)																																
Encendido de la luz UV (20 minutos) al inicio del turno																																
Realizar la purga del equipo																																
Encendido de la luz UV (20 minutos) al final del turno																																
Limpieza de superficies interiores																																
<b>SEMANAL</b>																																
Desinfección de superficies interiores																																
Lectura manómetro de presión																																
Limpieza lámpara UV																																
Limpieza ventana frontal																																
<b>MENSUAL</b>																																
Desinfección plenum inferior																																
Limpieza superficies exteriores																																
<b>ANUAL</b>																																
Proceso de certificación																																
Verificación con/unto motor ventilador																																
Verificación intensidad lámpara UV																																
Verificación lámpara fluorescente																																
<b>BIANUAL O RECOMENDACIÓN POST CERTIFICACIÓN</b>																																
Sustitución filtro HEPA																																
Sustitución lámpara fluorescente																																
Sustitución lámpara UV																																
<b>CADA VEZ QUE SEA NECESARIO</b>																																
DESCONTAMINACION CON GAS FORMALDEHIDO																																



PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

DPTO. PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

"SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR"



C) Revisión de los resultados del Control de Calidad Interno	Patólogo clínico		<ul style="list-style-type: none"> <li>Informe de Control de Calidad Interno</li> </ul>		Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	10 min
D) Realizar la Correlación Clínico Laboratorial, revisando resultados anteriores y tipo de pruebas diagnósticas del paciente en el sistema Netlabv2.	Patólogo clínico		<ul style="list-style-type: none"> <li>Computador a</li> </ul>		Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	2 a 3 min por cada resultado
E) Validar los Resultados evaluados en el Sistema Netlabv2			<ul style="list-style-type: none"> <li>Computador a</li> </ul>		Laboratorio de Microbacterias y Biología Molecular	1 min





PERÚ

Ministerio  
de Salud

Hospital  
Nacional Hipólito  
Unanue

DPTO.  
PATOLOGIA  
CLINICA Y  
ANATOMÍA  
PATOLOGICA

"SERVICIO DE  
MICROBIOLOGIA,  
INMUNOLOGIA Y  
BIOLOGIA  
MOLECULAR"



## ANEXO 11

### PROTOCOLO DE MANEJO DEL PASS TROUGH Y ENCENDIDO DE LA CABINA DE BIOSEGURIDAD (CBS)

1. Encontrándose el personal, en el área de Baciloscopia, dirigirse al **PASS THROUGH** para llevarse las muestras que fueron colocadas por el personal de recepción de muestras.
2. Presionar el botón verde de "ABRIR PUERTA".
3. Retirar las bandejas que contienen las muestras, empujar suavemente el asa para cerrar la puerta del pass through y que quede herméticamente cerrada.
4. Dirigirse con las bandejas a la mesa de trabajo y verificar los datos de la lista de trabajo con las muestras.
5. Una vez verificado los datos, dirigirse hacia la CBS clase II.
6. **ENCIENDA LA CBS.**
7. Verifique que todas las rejillas de retorno del aire (frontales y traseras) se encuentran libres de obstrucciones.
8. Permitir que la cabina funcione libremente por lo menos 5 minutos, a fin de purgar el aire.
9. Realice la limpieza del interior de la cabina con etanol al 70% y espere que seque.
10. Coloque el material de forma que no se crucen los materiales sucios con los materiales limpios, ni se impida la libre circulación del aire interno a través de las rejillas. Colocar en la parte posterior de la cabina un contenedor con desinfectante para descartar el material contaminado. Mantener los elementos al menos 10 cm detrás de la rejilla frontal.
11. Permitir que el aire fluya durante 5 minutos sin que exista actividad dentro de la cabina de seguridad biológica antes de iniciar el trabajo.
12. Al iniciar las actividades, se debe introducir lentamente las manos a la cabina. Realizar el procedimiento de forma metódica y cuidadosa, de las zonas limpias a las zonas contaminadas.
13. Colocar en la CBS un campo de trabajo (Papel plastificado)



