



GOBIERNO REGIONAL CAJAMARCA
HOSPITAL GENERAL JAÉN
DIRECCIÓN EJECUTIVA



"DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES"
"AÑO DEL BICENTENARIO, DE LA CONSOLIDACIÓN DE NUESTRA INDEPENDENCIA, Y DE LA
CONMEMORACIÓN DE LAS HEROICAS BATALLAS DE JUNÍN Y AYACUCHO"

EXPEDIENTE N° 001047-2024-019150

Jaen, 01 de agosto de 2024

RESOLUCION DIRECTORAL N° D351-2024-GR.CAJ-DRS-
HGJ/DE



Firmado digitalmente por BOLIVAR JOO
Diana Mercedes FAU 20453744168 hard
Hospital Jaén - DE - Dir.
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 01/08/2024 05:59 p. m.

VISTO:

El Expediente N° 001047-2024-019150, su proveído N° D2842-2024-GR.CAJ-DRS-HGJ/DE, relacionado a la aprobación de la Guía Técnica de Procedimientos de Microbiología Clínica del Hospital General de Jaén, y;

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 7° de la Constitución Política del Perú, establece que todas las personas tienen derecho a la protección de su salud, la del medio familiar y la de la comunidad, así como el deber de contribuir a su promoción y defensa;

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, siendo la protección de la salud de interés público, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, mediante Decreto Supremo N° 026-2020-SA se aprobó la Política Nacional Multisectorial de Salud al 2030 "Perú, País Saludable"; que establece los cuidados y atenciones de salud que reciben las personas, familias y comunidades a lo largo de su vida y las intervenciones estratégicas sobre los determinantes sociales de salud priorizados, basada en el enfoque de "Cuidado Integral por Curso de Vida",



Firmado digitalmente por
CARDOSO MAIRENA Cesar
Augusto FAU 20453744168
hard
Hospital Jaén - UGC - Jef. (e)
Motivo: Doy V°B° Por Encargo
Fecha: 01/08/2024 03:27 p. m.

Que, mediante Resolución Ministerial N° 826-2021/MINSA, se aprobó el documento denominado "Normas para la elaboración de documentos normativos del Ministerio de Salud"; la cual establece las disposiciones relacionadas con las etapas de planificación, formulación o actualización, aprobación, difusión, implementación y evaluación de los documentos normativos que expide el Ministerio de Salud, Direcciones u oficinas generales, Órganos desconcentrados y Organismos públicos adscritos; disposiciones de obligatoria observancia por todas las direcciones generales, órganos desconcentrados y organismos públicos adscritos del Ministerio de Salud.



Firmado digitalmente por
BOLIVAR JOO Diana Mercedes
FAU 20453744168 hard
Hospital Jaén - DE - Dir.
Motivo: Doy V°B°
Fecha: 01/08/2024 03:16 p. m.

Que, el numeral 6.1.3 de la citada directiva; define a la *Guía Técnica* como un documento normativo con el que se define por escrito y de manera detallada el desarrollo de determinados procesos, procedimientos y actividades administrativas, asistenciales o sanitarias. En ella se elaboran metodologías, instrucciones o indicaciones que permite al operador seguir un determinado recorrido, orientándolo al cumplimiento del objetivo de un proceso, procedimientos o actividades y al desarrollo de una buena práctica.



Firmado digitalmente por
BARBOZA MONTALVO Carlos
Fernando FAU 20453744168
soft
Hospital Jaén - SPC - Jef. (e)
Motivo: Doy V°B° Por Encargo
Fecha: 31/07/2024 03:10 p. m.

Que, la Guía Técnica de Procedimientos de Microbiología Clínica del Hospital General de Jaén, tiene por finalidad la estandarización de los procedimientos para que los resultados sean reproducibles y los médicos tratantes interpreten adecuadamente sus hallazgos para lograr un tratamiento adecuado del paciente. El propósito del análisis microbiológico de una muestra es determinar si existe una infección y si existe, identificar el microorganismo que la produce;



Firmado digitalmente por
JIMENEZ COLLAVE Jhony FAU
20453744168 soft
Hospital Jaén - OPPE - Jef.
Motivo: Doy V°B°
Fecha: 30/07/2024 07:33 p. m.



Firmado digitalmente por MEGO
PALACIOS Angellica Yahaira
FAU 20453744168 soft
Hospital Jaén - UAJ - Jef. (e)
Motivo: Doy V°B° Por Encargo
Fecha: 30/07/2024 03:49 p. m.

Av. Pakamuros Nro. 1289

(076)431400

www.gob.pe/hospitaljaen

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Gobierno Regional Cajamarca, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 del D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser verificadas en la dirección web: <https://gorecaj.pe/mad3validar> e ingresando el código: OJFZZE



**GOBIERNO REGIONAL CAJAMARCA
HOSPITAL GENERAL JAÉN
DIRECCIÓN EJECUTIVA**



"DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES"
"AÑO DEL BICENTENARIO, DE LA CONSOLIDACIÓN DE NUESTRA INDEPENDENCIA, Y DE LA
CONMEMORACIÓN DE LAS HEROICAS BATALLAS DE JUNÍN Y AYACUCHO"

Que, la citada guía; cumple con los requisitos y estructura establecida en la directiva precitada, además de contar con la opinión técnica de la Unidad de Gestión de la Calidad, por lo que corresponde ser aprobada vía acto resolutivo.

Por las consideraciones expuestas, contado con los vistos correspondientes y facultades conferidas mediante Resolución Ejecutiva Regional N° D000057-2019-GRC-GR; y,

RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO. - **APROBAR** la "Guía Técnica de Procedimientos de Microbiología Clínica" del Hospital General de Jaén, que como anexo a folios ciento cuarenta y uno (141), forma parte de la presente resolución.

ARTÍCULO SEGUNDO. - **RECOMENDAR** al Jefe del Servicio de Patología Clínica; la difusión, Implementación, supervisión y cumplimiento.

ARTÍCULO TERCERO. - **ENCARGAR** al responsable de administración y actualización del portal de transparencia para que publique la presente resolución en el portal web institucional del Hospital General de Jaén, www.hospitaljaen.gob.pe.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE.

DIANA MERCEDES BOLIVAR JOO

Directora

DIRECCIÓN EJECUTIVA

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN		
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	

GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN



Firmado digitalmente por
CARDOSO MAIRENA Cesar Augusto FAU 20453744168
 hard
 Hospital Jaén - UGC - Jefe (e)
 Motivo: Viso en señal de conformidad
 Fecha: 24/07/2024 03:16 p. m.



Firmado digitalmente por
BARBOZA MONTALVO Carlos Fernando FAU 20453744168
 soft
 Hospital Jaén - SPC - Jefe (e)
 Motivo: Viso en señal de conformidad
 Fecha: 25/07/2024 09:21 a. m.

JAÉN, MAYO 2024

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 2 - 141	

DIRECTORA EJECUTIVA

DRA. DIANA MERCEDES BOLÍVAR JOO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

DR. EDWIN GAVIDIA OLIVERA

JEFE APOYO AL DIAGNOSTICO

DR. FERNANDO BARBOZA MONTALVO

EQUIPO DEL SERVICIO

LIC.T.M MARIA DEL CARMEN CARRANZA NUÑEZ

LIC. T.M. ROSA ANGÉLICA SUYÓN PÉREZ

LIC.T.M. JIMMY BAZAN VASQUEZ.

LIC.T.M. FRANKLIN DIAZ MEGO.

LIC.T.M. CARMEN CHUMACERO CORDOVA.

LIC.T.M MARIBEL LINARES FUENTES.

LIC.T.M LILIANA GUZMAN GUERRERO.

LIC.T.M. OTILIA CAMPOS CHANTA.

LIC.T.M MARYLIN VICTORIA ECHE NAVARRO.

LIC.T.M NEISY ROMERO CARRASCO.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 3 - 141	

LIC.T.M. DANNER VERA ESTELA.
 LIC.T.M. AMPARO MONTEZA FACHO.
 LIC.T.M MARGARITA CHAVEZ VASQUEZ.
 LIC.T.M LESLY NICOLE BENITESCUBAS.
 LIC. MBLGO. BANI LOPEZ SALVADOR.
 LIC.MBLGO. ZACARIAS VILLARREAL SALAZAR.
 LIC.MBLGO JOSE DEL CARMEN ARIAS ALARCÓN.
 LIC. MBLGO. ESTHER SILVA LLIMO
 LIC. BLGA. ANITA ROMERO DIAZ
 TEC. DEYSI LEON PEREZ.
 TEC. LUZ MARIANA FERNANDEZBARBOZA.
 TEC. JOSÉ PALACIOS CABRALES.
 TEC. MARLENY CUBAS TARRILLO
 TEC. DERLY VILLANUEVA GUERRERO.
 TEC. LEIHLIT MORI TRIGOSO.
 TEC. ADOLFO DIAZ GINEZ.
 TEC. NOLA LELIS VARGAS CASTAÑEDA
 TEC. MARILE CARLOS SANCHEZ.
 TEC. TANIA LORENA CARRANZA BLAS
 TEC. ESTEFANIA PARRAGUEZ CUBAS.
 TEC. SALY ROCIO NUÑEZ MEGO.
 TEC. MIGUEL HORNA VELA.
 TEC. INGRID YURIDIA CIEZA CAMPOS.
 TEC. IRMA ZAPATA CUEVA.
 TEC. KARINA FLORES CASTILLO.
 TEC. JUAN CARLOS LIZANA OJEDA.
 TEC. CARMEN LUCY GONZALES TELLO.
 TEC. GISELA SALCEDO TAVARA.
 TEC. ALENDE TUCTO PEREZ.
 TEC. MANUEL BANCES HEREDIA.
 TEC. GIOVANY FLORES CAMPOS.
 TEC. YRIS MADELEINE VARGAS.
 TEC. OLANDI DIAZ SANCHEZ.
 TEC. CARMEN MUÑOZ CERDAN.

GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA DEL HOSPITAL GENERAL JAÉN

FASES	RESPONSABLE	VISTO BUENO Y SELLO
ELABORADO POR:	SERVICIO DE PATOLOGÍA CLÍNICA	 Firmado digitalmente por BARBOZA MONTALVO Carlos Fernando FAU 20453744168 soft Hospital Jaén - SPC - Jefe (e) Motivo: Visto en señal de conformidad Fecha: 31/07/2024 11:38 a. m.
REVISADO POR:	OFICINA DE PRESUPUESTO Y PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO	 Firmado digitalmente por JIMENEZ COLLAVE Jhony FAU 20453744168 soft Hospital Jaén - OPPE - Jefe Motivo: Visto en señal de conformidad Fecha: 30/07/2024 07:34 p. m.
REVISADO POR:	UNIDAD DE GESTIÓN DE LA CALIDAD	 Firmado digitalmente por CARDOSO MAIRENA Cesar Augusto FAU 20453744168 hard Hospital Jaén - UGC - Jefe (e) Motivo: Visto en señal de conformidad Fecha: 31/07/2024 08:48 a. m.
APROBADO POR:	DIRECCIÓN EJECUTIVA	 Firmado digitalmente por BOLIVAR JOO Diana Mercedes FAU 20453744168 hard Hospital Jaén - DE - Directora Motivo: Visto en señal de conformidad Fecha: 01/08/2024 03:17 p. m.

CONTROL DE CAMBIOS

Número de Revisión	Descripción del Cambio	Versión	Fecha	Responsable
0	Primera versión de la Guía Técnica de Procedimientos de MICROBIOLOGIA CLINICA del Hospital General de Jaén.	001	MAYO 2024	Departamento de Apoyo al Diagnóstico.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 6 - 141	

INDICE

I.	TITULO.....	8
II.	FINALIDAD.....	8
III.	OBJETIVOS	8
IV.	ÁMBITO DE APLICACIÓN.....	9
V.	NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO	9
VI.	CONSIDERACIONES GENERALES	9
	A. DEFINICIONES OPERATIVAS	18
	i. Definición del procedimiento.....	20
	ii. Aspectos epidemiológicos.....	20
	B. CONCEPTOS BÁSICOS.....	21
	C. REQUERIMIENTOS BÁSICOS	23
VII.	CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS	26
	7.1 DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO	26
	1. CONTROL DE CALIDAD	26
	2. EXAMEN COMPLETO DE ORINA.....	31
	3. PRUEBAS PARASITOLÓGICAS.....	39
	4. COPROLOGICO FUNCIONAL	50
	5. TEST DE ASS.....	57
	6. EXAMEN DIRECTO DE HONGOS.....	59
	7. TEST DE HELECHO.....	61
	8. EXAMEN DIRECTO DE SECRECIÓN VAGINAL.....	62
	9. EXAMEN DIRECTO DE SECRECIÓN URETRAL	63
	10. EXAMEN DIRECTO DE ÁCAROS.....	66
	11. INVESTIGACION DE CRYPTOCOCCUS	67
	12. IDENTIFICACION DE BARTONELLA.....	69
	13. IDENTIFICACIÓN DE LEISHMANIA	72
	14. GOTA GRUESA (IDENTIFICACIÓN DE MALARIA).....	73
	15. UROCULTIVO	76
	16. CULTIVO DE SECRECIONES Y LIQUIDOS CORPORALES	83
	17. HEMOCULTIVOS	92
	18. COPROCULTIVO	99
	7.2 DIAGRAMA DE FLUJO	106
	7.3 INDICACIONES	107

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 7 - 141	

i.	INDICACIONES ABSOLUTAS.....	107
ii.	INDICACIONES RELATIVAS.....	107
7.4	CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO DE MUESTRAS	108
7.5	RIESGOS O COMPLICACIONES FRECUENTES Y/O POCO FRECUENTES.....	111
7.6	CONTRAINDICACIONES	111
7.7	MANEJO DE COMPLICACIONES.....	111
VIII.	RECOMENDACIONES.....	111
IX.	ANEXOS	112
	ANEXO 01: INDICADORES DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA.....	112
	ANEXO 2: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD MEDIOS DE CULTIVO.	121
	ANEXO 3: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD DE REACTIVOS.	122
	ANEXO 4: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD ANTIMICROBIANOS.	123
	ANEXO 5: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD AGAR MÜELLER HINTON.	124
	ANEXO 6: PAUTAS CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE MEDIOS DE CULTIVO.	125
X.	BIBLIOGRAFIA.....	138

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 8 - 141	

I. TITULO

Guía técnica de procedimientos de Microbiología Clínica del Hospital General Jaén

II. FINALIDAD

Este documento es una guía para el diagnóstico microbiológico de las infecciones en las diferentes muestras biológicas del Hospital General de Jaén. Tiene como finalidad la estandarización de los procedimientos para que los resultados sean reproducibles y los médicos tratantes interpreten adecuadamente sus hallazgos para lograr un tratamiento adecuado del paciente. El propósito del análisis microbiológico de una muestra es determinar si existe una infección y si existe, identificar el microorganismo que la produce.

III. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Establecer e implementar una guía técnica en el área de microbiología del laboratorio clínico del Hospital General Jaén que les permita realizar procedimientos de forma correcta, acertada y de calidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir los procedimientos básicos de las pruebas de uroanálisis, parasitológicas y microbiológicas como del examen completo de orina, examen parasitológico directo y seriado, test de Graham, coprofuncional, reacción inflamatoria, Investigación directa de hongos y ácaros, examen directo de secreciones vaginales, coloración Gram, frotis para enfermedad de Carrión, leishmaniasis, malaria y hemoparásitos, urocultivo, coprocultivo, hemocultivo, cultivo de líquidos biológicos, cultivo de secreciones, cultivo de hongos y antibiograma.
- Servir de apoyo al profesional cuando tenga dificultades o dudas sobre la realización de un procedimiento.
- Conocer los problemas involucrados en el desarrollo de cada uno de los procesos y procedimientos.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 9 - 141	

- Para todo el personal nuevo y para todos aquellos profesionales que sea necesario una reinducción en la realización de un procedimiento.
- Seguir promoviendo la implementación y proyectos para la mejora continua de la calidad en salud y servicios médicos de apoyo al diagnóstico.

IV. **ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Personal del área de Microbiología, ya sean Profesionales y/o Técnicos, y a todo al personal del servicio de laboratorio clínico del Hospital General de Jaén. Su conocimiento, responsabilidad y aplicación es de carácter obligatorio por parte del personal de laboratorio.

V. **NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO**

NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO	CÓDIGO
Guía Técnica De Procedimientos de microbiología del Hospital General De Jaén	GTP-005/HGJ/DAD-V.03

VI. **CONSIDERACIONES GENERALES**

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Es importante que el personal de laboratorio adopte normas de Bioseguridad por encontrarse expuesto a riesgos de contagio, sino guarda dichas normas. ⁽¹⁾

- El laboratorio deberá estar ordenado y limpio; sin otro material que no sea pertinente a los trabajos.
- Las mesas de trabajo serán descontaminadas por lo menos una vez al día y después que cae sobre ellas material contaminado.
- El personal entrenado para trabajar en el laboratorio deberá lavarse las manos después de los 5 momentos establecidos.
- Se descontaminarán todos los desechos líquidos o sólidos contaminados antes de su eliminación o de darles otro destino.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 10 - 141	

- El personal del laboratorio deberá llevar equipos de protección personal.
- No se debe pipetear material infeccioso con la boca.
- Mientras se llevan a cabo los trabajos las puertas del laboratorio permanecerán cerradas.
- Cualquier derrame peligroso, accidente o exposición manifiesta o potencial a material infecciosos, se notificará de inmediato al Jefe de Laboratorio.
- No permitir la entrada en el laboratorio a las personas expuestas al riesgo de adquirir una infección, entre ellos los niños o individuos afectados por inmunodeficiencia o inmunosupresión.
- No se permitirá comer, beber, fumar almacenar alimentos ni aplicarse productos de tocador en el sector de los trabajos de laboratorio.

HOJA DE SOLICITUD

La solicitud de una muestra contiene la información suficiente para identificar al paciente y proporciona los datos clínicos pertinentes.

La solicitud se realizara en formato papel o petición electrónica con la siguiente información: ⁽²⁾

- Nombre y apellidos del paciente
- Número de historia clínica del paciente
- Documento de identidad (DNI) o Carnet de Extranjería
- Fecha de nacimiento del paciente
- Sexo del paciente
- Localización del paciente: cama hospitalaria, servicio
- Datos del médico solicitante: Nombre y apellidos, número de colegiación y firma.
- Diagnóstico del paciente
- Fecha y hora de la toma de la muestra
- Datos clínicos y tratamientos antibióticos previos
- Análisis solicitados

IDENTIFICACION DEL PACIENTE Y DE LA MUESTRA

Se deberá identificar siempre al paciente previamente a la toma de muestras, para lo que se le preguntará su nombre y verificará que es el mismo consignado en la solicitud. Si el paciente no estuviera capacitado para la respuesta se le preguntará al acompañante.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 11 - 141	

En el servicio de hospitalización, emergencia y UCI - UCIN la identificación se realiza mediante la comprobación del número de cama y la etiqueta adherida a la cama o cuna del mismo.

Es imprescindible la correcta identificación de la muestra, haciendo constar nombre y apellidos del paciente, DNI o código de barras, servicio solicitante, tipo de muestra, fecha y hora de recolección.

OBTENCION DE LA MUESTRA

Para obtener resultados correctos y de calidad la obtención de la muestra debe seguir unos principios generales. ⁽²⁾

- La muestra debe ser representativa del proceso y tomada lo más precozmente posible tras el inicio de los síntomas o aparición de la lesión.
- La información clínica es la que permite al laboratorio aplicar las técnicas diagnósticas disponibles de manera más eficiente
- Se debe recoger el volumen suficiente para asegurar un examen adecuado.
- Se evitará contaminar la muestra con la flora normal ya sea del propio paciente o bien del personal que manipule la muestra, en máximas condiciones de asepsia posibles (lavado de manos y cambio de guantes entre pacientes)
- Se tomará la muestra antes de instaurar tratamiento antibiótico. Si esto no es posible, se obtendrá justo antes de la administración de las dosis del antimicrobiano, o 48 horas después de la retirada del mismo, indicando en la solicitud de petición los antibióticos administrados, tiempo de tratamiento, tiempo transcurrido desde la última dosis y la recogida de la muestra
- Las muestras se tomarán con dispositivos estériles y se colocarán en recipientes adecuados estériles y herméticos para su transporte al laboratorio.
- El transporte debe realizarse lo antes posible. Si se ha de producir un retraso en el envío, la muestra deberá almacenarse en las condiciones correctas para cada caso.
- El síndrome clínico y los posibles agentes etiológicos implicados condicionan no sólo el tipo de muestra a enviar sino también su procedimiento de obtención y el transporte al laboratorio.
- La comunicación entre el laboratorio y el clínico es esencial para la elección de las pruebas diagnósticas a realizar y la interpretación de sus resultados y especialmente en las muestras de obtención dificultosa o alta significación clínica.

- Los tipos de muestras adecuadas estarán en función de las infecciones (Tabla N° 1).

Tabla N° 1. Muestras clínicas recomendadas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones más comunes. ⁽²⁾

TIPO DE INFECCION	MUESTRA	
COMENTARIO		
BACTEREMIA	Hemocultivo	
Infecciones cardiovasculares y asociadas a dispositivos intravasculares (IV)		
Endocarditis	Hemocultivos/Válvulas/Verrugas	
Infección del catéter	Catéter IV, piel pericatóter, conexión del catéter	
Pericarditis	Líquido pericárdico	
Sistema nervioso central		
Meningitis	LCR	
Abscesos cerebrales	Aspirados de abscesos	
Tracto respiratorio		
Faringoamigdalitis	Exudado faríngeo	
Sinusitis nasales	Aspirado sinusal	No válidos los exudados nasales
Otitis media	Timpanocentesis	
Otitis externa	Exudado oído externo	
Neumonía	Espujo, muestras obtenidas por fibrobroncoscopia, Punción transtorácica espirativa, punción transtraqueal, broncoaspirado	
Empiema y abscesos pulmonares tosferina/Infecc.	Líquido pleural, aspirados de abscesos Nasofaríngeo Nasal	Diagnóstico víricas Detección de S. aureus
Infecciones oculares		
Conjuntivitis	Exudado conjuntival/raspado	
Queratitis	Raspado corneal	
Endoftalmitis	Líquido intraocular	

Infecciones gastrointestinales		
Diarrea	Heces/biopsia intestinal/ Aspirado duodenal	
Infecciones intraabdominales		
Peritonitis	Líquido peritoneal	
Abscesos intraperitoneales y abscesos viscerales	Aspirados de abscesos	
Colecistitis	Líquido biliar	
Tracto urinario		
Infeción urinaria bacteriuria	Orina (micción media, sonda) Orina obtenida mediante punción suprapúbica	Diagnóstico de por anaerobios y ITU en niños
Tracto genital		
Úlceras genitales	Raspado de la úlcera	
Nódulos genitales	Aspirado del nódulo	
Uretritis	Exudado uretral	
Vulvovaginitis agalactiae	Exudado vaginal	Detección de S. (también exudado rectal)
Cervicitis	Exudado endocervical	
Prostatitis Secreción prostática	Acompañada de orina pre y post masaje prostático	
Piel y tejidos blandos		
Impétigo, foliculitis, erisipela, celulitis, úlceras, infecciones gangrenosas, abscesos cutáneos, heridas y quemaduras	Preferiblemente aspirados tomados con jeringa y biopsias de tejido. Son menos recomendables las muestras tomadas con torundas	
Hueso y articulaciones		
Artritis	Líquido sinovial	
Osteomielitis	Biopsia ósea o exudado	

RECIPIENTES

Se emplearan recipientes u otros de características similares, según disponibilidad del hospital. En caso de duda contactar con el Servicio de Microbiología. ⁽²⁾

En la Tabla N° 2. Se muestran los recipientes empleados en la toma y transporte de muestras de uso más frecuente.

Tipo de recipiente	Imagen	Tipo de muestra	Observaciones
Frasco estéril hemocultivos		Sangre Líquidos biológicos Punciones/aspiraciones	Cuatro tipos disponible Aerobios Anaerobios Pediátricos Micobacterias
Frasco estéril boca ancha cierre rosca		Múltiples (orina, heces, esputo, líquidos, biopsias, tejidos, catéter)	
Tubo estéril CON CONSERVANTE, recogida mediante sistema de vacío		Orina	Conservar a temperatura ambiente No se deben utilizar tubos con conservante para cultivo de micobacterias, virus, hongos, detección de antígenos o detección de parásitos.
Frasco estéril boca estrecha cierre rosca		LCR CATETER LIQUIDOS BIOPSIAS, TEJIDOS	
Torunda estándar con medio líquido de transporte AEROBIOS/ ANAEROBIOS/ GERMENES EXIGENTES		EXUDADOS (ulceras, heridas, exudados ótico, faríngeo, oral, conjuntival, vaginal, otros exudados)	CULTIVO BACTERIANO Válido para: Aerobios Anaerobios Gérmens exigentes CONSERVAR A TEMPERATURA AMBIENTE

Torunda URETRAL con medio líquido de transporte AEROBIOS/ ANAEROBIOS/ GERMENES EXIGENTES		TRACTO UROGENITAL (uretral, endocervical)	CULTIVO BACTERIANO Medio líquido válido para: Aerobios, Anaerobios, Gérmenes exigentes OTROS: Chlamydia (detección molecular) • Otras PCR CONSERVAR A TEMPERATURA AMBIENTE
Torunda PERNASAL con medio líquido de transporte AEROBIOS/ ANAEROBIOS/ GERMENES EXIGENTES		PERNASAL	CULTIVO BACTERIANO Bordetella spp Medio líquido válido para: Aerobios, Anaerobios, Gérmenes exigentes CONSERVAR A TEMPERATURA AMBIENTE
Frasco o tubo estéril con medio de transporte líquido para VIRUS		VARIAS	CULTIVO VIRUS Inhibe el crecimiento bacteriano: NO VÁLIDO PARA CULTIVO BACTERIANO CONSERVAR EN REFRIGERACIÓN (2 A 8°C).

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo desecados deberán conservarse en lugar seco, protegidos de la luz, a una temperatura entre 2-8 °C, y/o de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Deben protegerse siempre de la luz, se debe estar verificando continuamente su fecha de vencimiento. Los medios de cultivo recomendados para el procesamiento de muestras se detallan en la tabla 3.

Tabla N° 3. Medios de cultivos recomendados y tinción Gram para muestras microbiológicas. ⁽²⁾

Muestras / Microorganismo	Gram	A S	A CH	MCK	Tio / BHI	Otros
Biopsias	X	X	X	X	X	Medios anaerobios
biopsias (intestinal, colon, rectal)						C. difficile
Biopsias gástricas	X					Helicobacter pylori
Catéter vascular		X				
Conexiones / piel pericatéter		X				
Rectal		X				S. agalactiae
Uretral	X		X			Tayer Martir
Cervical		X	X			Tayer Martir
Secreción prostática		X	X	X	X	
Vaginal		X				
Heces						Caldo Selenito, SS o similar Campylobacter selectivo Sangre ampicilina
Heridas profundas, mordeduras, quemaduras, Ulceras, abscesos, heridas superficiales	X	X	X	X	X	Medios anaerobios
Jugo gástrico		X	X	X	X	Medios anaerobios
Líquidos: ascítico, peritoneal, pericárdico, sinovial, pleural	X	X	X	X	X	BCYE, Medios anaerobios
LCR	X	X	X		X	Medios anaerobios

Exudado conjuntival		X	X			
Líquido intraocular	X	X	X	X	X	Medios anaerobios
Oído externo		X	X	X		
Timpanocentesis	X	X	X	X	X	
Orina (micción, sondaje)		X		X		Agar CLED
Orina suprapúbica	X	X	X	X	X	Medios anaerobios
Broncoaspirado	X	X	X	X		BCYE
Cepillado bronquial con telescopado	X	X	X	X		BCYE, Medios anaerobios
Lavado broncoalveolar	X	X	X	X		BCYE
Esputo	X	X	X	X		
Aspirado sinusal	X	X	X	X	X	Medios anaerobios
Faríngeo		X				Alternativo CNA
Nasal		X				Agar Manitol Salado
Clostridium difficile						CCFA
E. coli O157H7						Sorbitol-MCK
Bordetella pertussis						Bordet Gengou
Helicobacter pylori		X				Agar Helicobacter Thayer Martin
Legionella						BCYE
Neisseria gonorrhoeae			X			Tayer Martir
Streptococcus agalactiae		X				Todd-Hewitt Agar Granada
Vibrio						TCBS
Yersinia						CIN

Abreviaturas: AS: Agar sangre; ACH: Agar chocolate; MCK: Agar MacConkey; Tio/BHI: Caldo tioglicolato o infusión cerebro-corazón de buey; BCYE: agar enriquecido para cultivo de Legionella; CNA: agar sangre

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 18 - 141	

colistina-ácido nalidixico; CCFA: agar cicloserina-cefoxitina-fructosa-yema de huevo; TCBS: agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa; CIN: agar cefsulodina-irgasan-novobiocina.

A. DEFINICIONES OPERATIVAS

Gestión de calidad: Conjunto de actividades que determinan en una institución la política en calidad, sus objetivos, las responsabilidades y su implementación (Nelson Jorge Argeri, 1993).⁽³⁾

Control: Es un espécimen en el que se conoce el intervalo de valores de uno o más analitos.⁽³⁾

Calidad: Es el grado en el cual un conjunto de características inherentes cumplen con los requisitos de buenas prácticas y así obtener resultados confiables y válidos.⁽³⁾

Control de calidad: Son técnicas operativas, que facilitan el monitoreo continuo de los procedimientos realizados, permitiendo detectar, reducir y corregir errores en la ejecución de alguna técnica e identificar problemas que se presenten con los reactivos, medios de cultivo o cualquier insumo de uso diario o esporádico.⁽³⁾

Control de calidad interno: Es detectar la eventual existencia de anomalías en el proceso de medida. El control interno debe, además ser especialmente eficaz en la detección de errores que superen el máximo tolerable. Es decir, se trata de asegurar que los resultados obtenidos en una serie analítica no contienen más error que el característico del procedimiento de medida o pequeños errores adicionales que no comprometen la calidad de los resultados obtenidos para los pacientes.⁽⁴⁾

Control de calidad externo: No puede sustituir al control interno de la calidad, pero lo complementa por ser capaz de detectar errores en un procedimiento de medida en condiciones de estabilidad del mismo, mientras que el control interno solo detecta desviaciones del comportamiento estable. Principalmente el control externo se utiliza para identificar el error sistemático, aunque también puede ser útil para reforzar el control del error aleatorio.⁽⁴⁾

Cultivo: Es el proceso de proliferación de microorganismos al proporcionarles un entorno apropiado. Los microorganismos en proliferación producen réplicas de sí mismos y necesitan los elementos presentes en su composición química. Los nutrientes deben proporcionar estos elementos en una forma que sea accesible desde el punto de vista metabólico. Además, los microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y mantener gradientes químicos esenciales a través de sus

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 19 - 141	

membranas. Los factores que deben controlarse durante la proliferación incluyen nutrientes, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y fuerza iónica del medio (5).

Diagnostico microbiológico: Identificación y diferenciación intra e interespecífica de un microorganismo, procedente de muestras de diversos orígenes agentes causantes o no de enfermedad. (6)

Recuento de microorganismos viables. Con este método se puede distinguir entre células viables y no viables; esto se logra sembrando diluciones de las muestras que contienen los microorganismos en medios de cultivos sólidos dispensados en cajas Petri, incubando y posteriormente realizando el conteo de las colonias visibles. (6)

Antibiótico: Medicamento empleado para eliminar o suprimir el crecimiento de infecciones causadas por bacterias. (7)

Antimicótico: Medicamento empleado para eliminar o suprimir el crecimiento de hongos. (7)

Bacteria: Microorganismo unicelular. (7)

Cepa: Grupo de microorganismos, como bacterias o virus, que pertenecen a la misma especie y comparten ciertas características que no se encuentran en otros miembros de la especie. (7)

Inoculo: Concentración de microorganismos utilizada para realizar un cultivo microbiano. (8)

Resistencia bacteriana: Capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos de los antibióticos. Las cepas resistentes se hacen predominantes por la presión selectiva de los antibióticos que hacen desaparecer las bacterias sensibles, no estando implicados solamente los antibióticos utilizados en medicina, sino también y de forma muy importante los empleados en veterinaria. (9)

SIGLAS:

ATCC: American Type Culture Collection. Material biológico de referencia y certificado.

CLSI: (NCCLS): Clinical and Laboratory Standard Institute. Instituto de estándares para el laboratorio clínico.

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 20 - 141	

CARBA: Enzimas que producen resistencia a los antibióticos carbapenémicos.

KPC: *Klebsiella pneumoniae* productora de Carbapenemasas tipo KPC.

AMP- C: Enzima de clase molecular C.

MRSA: *Stafilococcus aureus* resistente a la metilina.

EVR: *Enterococcus* Resistente a la Vancomicina.

i. Definición del procedimiento

Microbiología clínica es una especialidad médica dedicada al estudio y tratamiento de las enfermedades infecciosas que afectan a los humanos, y por extensión a otros seres vivos. El microbiólogo y parasitólogo está especializado en los procesos patológicos originados por microorganismos que afectan a la salud humana. Su objetivo es la detección, aislamiento, identificación, mecanismos de colonización y patogenicidad, mecanismos de diseminación y transmisión, significación clínica y epidemiológica, procedimientos para su control sanitario o terapéutico y respuesta biológica del ser humano ante los microorganismos. Estos incluyen: bacterias, hongos, protozoos y virus; microorganismos en general.⁽⁵⁾

El microbiólogo clínico normalmente ejerce en los laboratorios hospitalarios, o de servicios de salud pública, precisando una tecnología y métodos de trabajo diferentes a los de otros laboratorios clínicos. No atienden directamente a los pacientes, sino que dan respuesta a las consultas de los médicos clínicos, mediante el envío de muestras tomadas a enfermos o portadores de infecciones. El microbiólogo las estudia y dictamina sobre la existencia o no de enfermedades infecciosas, identificando el microorganismo aislado y proponiendo la forma de eliminarlo.

ii. Aspectos epidemiológicos

Es necesario el mapa microbiológico en toda institución de salud donde se realice microbiología clínica ya que es un instrumento para el sistema de vigilancia brindándonos información de gran interés, permite resumir estadísticamente las bacterias circulantes a nivel del hospital, su identificación por tipo de muestras clínicas, por servicios, incluyendo los de atención al grave y su comportamiento frente a los

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 21 - 141	

antibióticos en uso; contribuye además al inicio del tratamiento efectivo y oportuno en los pacientes que presentan infecciones, a la disminución de la estadía hospitalaria y la reducción de los costos de la atención médica.

En el año 2021 se estudiaron 2706 muestras clínicas provenientes de pacientes de todos los servicios del Hospital General Jaén de los cuales 729 fueron positivos (26.9 %). Observándose una distribución importante de agentes bacterianos Gram Negativos 517 (70.9%), Gram Positivos 138 (18.9%) y agentes fúngicos 74 (10.2%). Se incluyen los siguientes tipos de muestra: Orina 547 (75%), Secreciones 163 (22.4), sangre 13 (1.8%), líquidos 2 (0.3%) y heces 4 (0.5%)

En el año 2022 se estudiaron 3993 muestras clínicas provenientes de pacientes de todos los servicios del Hospital General Jaén de los cuales 1091 fueron positivos (27.7 %). Observándose una distribución importante de agentes bacterianos Gram Negativos 784 (71.9 %), Gram Positivos 149 (13.7 %) y agentes fúngicos 158 (14.4 %). Se incluyen los siguientes tipos de muestra: Orina 681 (62.5%), Secreciones 396 (36.2%) como esputo, secreciones vaginales, bronquiales, faríngeas, heridas, abscesos, semen, tejidos, raspado de piel, sondas, punta de CVC; Sangre 7 (0.6%), Líquidos 5 (0.5%). LCR, Peritoneal, Pleural, Ascítico, Sinovial; Heces 2 (0.2%).⁽¹⁰⁾

B. CONCEPTOS BÁSICOS

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Las muestras serán procesadas según sus protocolos de trabajo, según petición de la solicitud, tipo de muestra/técnica de obtención, diagnóstico del paciente/enfermedad de base, motivo de petición, cualquier otra información aportada en la petición.

Pretratamiento de la muestra

Frotis sanguíneo: Procedimiento por el que se observa bajo un microscopio una muestra de sangre para contar los distintos tipos de células sanguíneas que circulan (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, etc.) y para determinar si el aspecto de las células es anormal.⁽¹¹⁾

Centrifugación: Se centrifugarán todos los líquidos en volumen superior a 1ml a 2.500 rpm durante 15 minutos.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 22 - 141	

Homogenización: Todo este procedimiento será con instrumentos estériles. Con ayuda de bisturí triturar la muestra en una placa o en un mortero añadiendo 1 a 2 ml de caldo de cultivo, traspasar la muestra con una pipeta a un recipiente.

Las muestras que se procesen para hongos no se homogenizan sino que se deben cortar en pequeños trozos con la ayuda del bisturí y se inoculan directamente sobre los medios de hongos con objeto de evitar que determinados hongos no septados sean inviables.

Inoculación de la muestra en los medios de cultivo: selección de los medios:

Muestras no triturables: Si la muestra es pequeña, introducirla en un caldo de cultivo e incubar 24 horas tras lo cual se harán subcultivos a los medios necesarios. Si la muestra es grande, añadir al contenedor en el que se recibe 10-20 ml de caldo de enriquecimiento e incubar inmediatamente, tras las 24 horas realizar subcultivos a medios necesarios.

Muestras recibidas en jeringas o tubos estériles: Inocular 2 o 3 gotas de la muestra en uno de los cuadrantes de la placa de Petri, estriar en todos los cuadrantes de la placa, inocular unas gotas de la muestra en un caldo BHI.

Muestras recibidas en torundas: Hacer rotar la torunda varias veces en uno de los cuadrantes de la placa y estriar en todos los cuadrantes, introducir la torunda en un caldo BHI e incubar.

Técnica de Maki para cultivo de catéteres intravasculares. Con la ayuda de un asa o de unas pinzas estériles extraer el catéter de su envase. Si mide más de 2-4 cm, cortarlo con un bisturí hasta esa longitud, depositarlo en una placa de agar sangre y rodar desde un extremo al otro de la placa 3-4 veces.

Colonización del catéter: crecimiento significativo de al menos un microorganismo en un cultivo cuantitativo o semicuantitativa de una punta de catéter, de un segmento subcutáneo o de una conexión.

INCUBACION

Temperatura: Los cultivos bacterianos se cultivan de 35-37 °C, Campylobacter de heces requiere una temperatura de incubación de 42°C, La mayoría de los cultivos para hongos se incuban a 30°C.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 23 - 141	

Atmósferas de incubación: Aerobiosis, atmósfera enriquecida con 5-7% de CO₂, atmósfera microaerofílica para el aislamiento de Campylobacter: 5% de O₂, 10% CO₂ y 85% de N₂.

C. REQUERIMIENTOS BÁSICOS

Recurso humano

- Licenciado biólogo / microbiólogo / tecnólogo médico en laboratorio clínico y anatomía patológica capacitado.
- Técnico en laboratorio (colaborador)

Equipos

- Microscopio
- Centrifuga
- Incubadoras a 37 °C y 42 °C
- Autoclave
- Equipo automatizado para identificación y antibiograma
- Refrigeradoras
- Baño maría
- Cabina de bioseguridad
- Mechero bunsen
- Pipetas automáticas de 100 a 1000 mL y 0 a 100 mL.

Medios de cultivo

- Agar base sangre
- Agar Mac Conkey
- Agar CLED (cistina lactosa deficiente de electrolitos)
- Agar chocolate
- Agar manitol salado
- Agar cetrimide
- Agar Saboraud
- Agar papa dextrosa
- Agar Salmonella-Shigella
- Agar Mac Conkey sorbitol
- Agar TCBS (tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa)
- Agar XLD (xilosa lisina desoxicolato)

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 24 - 141	

- Agar Thayer Martin
- Agar TSI (triple azúcar hierro)
- Agar LIA (lisina hierro)
- Agar MIO (indol Ornitina)
- Agar Citrato de Simmons
- Agar infusión cerebro corazón
- Agar nutritivo
- Agar Müller Hinton
- Agar cromo orientación
- Caldo Infusión Cerebro Corazón
- Medio de transporte Cary Blair

Reactivos y colorantes

- Placas para identificación automatizada de Enterobacterias, cocos Gram positivos, Gram negativos no fermentadores, levaduras.
- Frascos de hemocultivo neonatal, pediátrico y adulto
- Reactivo de kovac
- Aceite de inmersión
- Pruebas rápidas para identificar sangre oculta en heces
- Pruebas inmunocromatográficas de malaria
- Pruebas inmunocromatográficas para detectar Carbapenemasas
- Set de colorantes Batería Gram (cristal violeta, lugol Gram, decolorante Gram, fucsina básica)
- Colorante azul de metileno
- Reactivo Benedict
- Reactivo Sudan
- Hidróxido de potasio al 10 %
- Peróxido de hidrogeno
- Tiras reactivas de orina
- Tiras reactivas de oxidasa
- Colorante Giemsa
- Sulfato de Zinc al 33.3% densidad 1180
- Colorante Wright

Muestra

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 25 - 141	

- Muestra de orina primera micción de la mañana o recién emitida o no más de 2 horas de recolectada o recolectada después de 4 horas de la última micción.
- Muestra de heces no menos de 2 horas o en medio de transporte
- Muestras de secreciones (bronquial, vaginal, heridas, abscesos, faríngeas)
- Muestras raspado de piel (escamas, uñas, pelos, costras)
- Muestras de líquidos biológicos (LCR, sinovial, pleural, pericárdico, peritoneal, amniótico)
- Muestra de sangre periférica
- Tejidos (muscular, óseo)
- Dispositivos médicos (punta de catéter venoso central, piezas ortopédicas)

Materiales e insumos

- Equipo de protección personal (mandil, guantes, gorro, botas, mascarilla)
- Portaobjetos de vidrios limpios y desgrasados (25 x 75 mm).
- Frasco gotero.
- Agua estéril
- Pipeta Pasteur
- Cámara de Neubauer
- Guantes.
- Marcador de vidrio.
- Papel toalla.
- Gradilla
- Alcohol 70%
- Erlenmeyer
- Placas Petri de 60mm, 90 mm, 100 mm y 150mm
- Hisopos de algodón
- Tubos de ensayo de 15 x 150, 13 x 100
- Tubos cónicos de plástico estériles
- Tubos cónicos de plástico 50 ml de capacidad
- Gasas
- Copa de plástico de 150 a 200 ml
- Colocar de plástico
- Solución de azúcar
- Azas de siembra 1 ul, 10 ul
- Vernier o regla

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 26 - 141	

- Pinza punta plana
- Bisturí N° 21
- Pipetas plásticas de transferencia
- Discos de sensibilidad antibiótica
- Ácido Sulfosalicilico al 3 %
- Jeringa y aguja N°21.

VII. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

7.1 DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO

1. CONTROL DE CALIDAD

1.1 Control de calidad de muestras clínicas

Uno de los aspectos más importantes en un laboratorio de microbiología es la apropiada selección, recolección y transporte de las muestras clínicas. Por lo que todo el personal relacionado con estas responsabilidades, debe comprender lo determinante que es el mantenimiento de la calidad de la muestra, en la evaluación e informe de una especie aislada.

A pesar de que algunos tipos de muestras requieren metodología de recolección y transporte muy especiales, se pueden enumerar algunos aspectos generales que deben tenerse en cuenta al recolectar las muestras clínicas: ⁽¹²⁾

- La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso.
- Al tomar una muestra clínica, es importante evitar la contaminación con microorganismos de la flora normal del área afectada.
- Seleccionarse el lugar anatómico correcto de donde se obtendrá la muestra, utilizar la técnica apropiada y los instrumentos o elementos adecuados para su obtención.
- Recolectar un volumen apropiado de muestra para evitar los resultados falsos negativos.
- Identificar cada muestra con el nombre del paciente y su número de identificación.
- Colocar la muestra en un recipiente adecuado para su transporte, con el fin de asegurar la sobrevivencia del posible agente infeccioso.
- Evitar derramar la muestra y mantener en todo momento las medidas de bioseguridad apropiadas.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 27 - 141	

1.2 Control de calidad de tinciones:

- 1.2.1 El control de calidad permite evaluar la calidad de los reactivos, al operador y la calidad del microscopio mediante el uso de cepas controles de afinidad tintorial, morfología y disposición conocida.
- 1.2.2 El control de calidad de las tinciones debe realizarse primero con cada nuevo lote, luego basta con un control semanal para mantener un grado de seguridad apropiado en su uso.
- 1.2.3 Para el control diario de la tinción de Gram, se recomienda el uso de una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* y de *Escherichia coli*.
- 1.2.4 Es necesario llevar un registro de estos controles. ⁽¹²⁾

1.3 Control de calidad de los medios de cultivo:

- 1.3.1 Los medios de cultivo comerciales no requieren pruebas de control de calidad adicional, puesto que su calidad ya ha sido certificada por el fabricante. Sin embargo cada vez que se abre una nueva serie es importante verificar sus características usando cepas control específicas dependiendo del tipo de medio.
- 1.3.2 En los medios de cultivos se debe controlar:
 - 1.3.2.1 La condición de si es nutritivo
 - 1.3.2.2 Si es selectivo, o
 - 1.3.2.3 Si es diferencial en cada serie.
- 1.3.3 Medir el pH de cada lote preparado cada vez. Se realiza con papel pH o pH-metro. Rango aceptable – 7.4.
- 1.3.4 Control de esterilidad de cada lote. Cada vez que se prepara el medio de cultivo, incubar el 100% de estos a 35°C por 24 horas. Leer y volver a incubar, en estufa de cultivo, entre un 5% y un 10% de estos mismos medios a 35°C por 24 horas más.
- 1.3.5 Los medios de cultivo preparados manualmente requieren control de calidad cada vez que se preparen. Este control permite demostrar que:
 - 1.3.5.1 El medio es estéril antes de su inoculación.
 - 1.3.5.2 Se desarrollan o inhiben los microorganismos que deben desarrollarse o inhibirse. ⁽¹²⁾

1.4 Control de calidad de reactivos y pruebas de identificación:

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 28 - 141	

- 1.4.1 El control de reactivos permite evaluar la calidad de estos, la calidad en el procesamiento de la técnica, así como la interpretación de los resultados, mediante controles de comportamiento conocido y estandarizado.
- 1.4.2 Control de kits reactivos para pruebas de identificación rápida
- 1.4.3 Control de reactivos para pruebas de identificación convencional. Algunos de los reactivos sometidos a control son: Coagulasa, Catalasa, Indol, Optoquina, Bacitracina, Novobiocina, Oxidasa.
- 1.4.4 Control de pruebas de identificación automatizadas (equipos automatizados).
- 1.4.5 El control de pruebas de identificación demuestra que los microorganismos (género, especie y subespecie) son reconocidos en forma correcta por los sistemas automatizados de identificación.
- 1.4.6 Debe utilizarse cepas ATCC de referencia para los controles periódicos, que pueden ser semanales, quincenales o mensuales, dependiendo del uso que se le dé al equipo automatizado. ⁽¹²⁾

1.5 Control de pruebas de susceptibilidad automatizadas y no automatizadas.

El control de pruebas de susceptibilidad permite demostrar que los microorganismos (género y especie) son resistentes o susceptibles a distintos antibióticos dentro del intervalo esperado. Realizar control de:

- 1.5.1 Medio de cultivo.
- 1.5.2 pH del medio.
- 1.5.3 Altura de las placas de agar.
- 1.5.4 Antimicrobianos (sensidiscos o drogas o paneles antimicrobianos). Según Tabla N° 3 de control de calidad de la CLSI, vigente del año.
- 1.5.5 Número de sensidiscos por placa.
- 1.5.6 Humedad.
- 1.5.7 Temperatura de incubación.
- 1.5.8 Se requiere contar con los siguientes estándares:
- Cepas ATCC.
 - Estándar Mac Farland.
 - Tablas CLSI vigentes.
- 1.5.9 Los controles de calidad internos deben realizarse en forma periódica semanal o quincenalmente dependiendo si se está dentro de los rangos de acuerdo

a las tablas CLSI, con cada una de las cepas de control ATCC y para cada uno de los antibióticos utilizados en la rutina.

1.5.10 Las pruebas de susceptibilidad se separan en:

- Susceptibilidad por Difusión en placas de agar.
- Susceptibilidad por Dilución donde se determina la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM): la dilución del antimicrobiano puede ser en caldo o en agar. Seguir instrucciones del fabricante. ⁽¹²⁾

1.6 Control de calidad de equipos

1.6.1 Todos los instrumentos utilizados en el laboratorio deben estar respaldados por un programa de control de calidad y de mantenimiento preventivo y correctivo, basados en las instrucciones del fabricante y los procedimientos establecidos. Debe mantenerse un registro de todo lo realizado al respecto, con el nombre del instrumento, fecha, resultado y comentarios.

1.6.2 Debe redactarse un manual de procedimientos operacionales que

Incluya:

1.6.3 Listado de los equipos con nombre, marca, modelo, número de serie, fecha de recibo y Número de inventario de la institución.

1.6.4 Registro del mantenimiento preventivo y correctivo, periodicidad de la inspección y fallas del instrumento.

1.6.5 Debe incluirse un apartado de corrección de fallas y acciones correctivas efectuadas.

1.6.6 Instrucciones de uso del instrumento, redactadas en forma clara y en el idioma de los Usuarios. Incluir precauciones de seguridad, procedimientos de limpieza, cuidado del instrumento y acciones correctivas. ⁽¹²⁾

Cuadro N° 04 Se presentan los aspectos que deben controlarse en los diferentes equipos y su periodicidad.

Equipo	Procedimiento	Periodo	Límites de Tolerancia	Precauciones
Refrigerador 4°C	Registro temperatura	Diario	+/- 1°C	Limpieza mensual

Incubadoras 35-37°C	Registro temperatura	Diario	35 - 37°C	Limpieza mensual
pH metro	Registro solución calibradora certificada	Cada vez que se use	+/- 0.1	Limpiar cada vez que se use
Autoclave	Controles biológicos	Diario	No-crecimiento	Limpiar cada vez que se use
Microscopio	Limpieza	Cada vez que se use	---	Revisión general cada 6 meses
Centrífuga	Comprobar rpm	Cada seis meses	---	Revisión general cada 12 meses
Cabina de Seguridad Biológica	Registro flujo de aire y luz UV Limpieza	Diario	---	Cambio de filtros cada 3000 horas de funcionamiento

1.7 Control de calidad externo:

1.7.1 Es recomendable que los laboratorios de microbiología puedan participar en programas de evaluación externa. Estos programas miden la capacidad del laboratorio para evaluar una muestra desconocida y llegar a un resultado seguro.

1.7.2 Estos controles de calidad externos pueden ser nacionales o internacionales. ⁽¹²⁾

1.8 Registros:

Identificación del registro	Almacenamiento	Protección	Recuperación	Tiempo de retención y disposición.
Registro de control de Tinciones.	Microbiología	Acceso Restringido, sólo personal autorizado.	Microbiología	5 años y se guarda en archivos.

Registro de control de Reactivos	Microbiología	Acceso restringido	Microbiología	5 años y se guarda en archivos.
Registro de control de Medios de cultivo.	Microbiología	Acceso restringido	Microbiología	5 años y se guarda en archivos.
Registro de control de Sensibilidad por Discos.	Microbiología	Acceso restringido	Microbiología	5 años y se guarda en archivos.

2. EXAMEN COMPLETO DE ORINA MUESTRA

Una muestra al azar es por lo general suficiente para la realización de la mayoría de las pruebas selectivas; pero como la primera micción matinal es más concentrada, resulta por lo general, la muestra de elección. Las muestras recolectadas al azar durante el día a veces presentan tal dilución por un aumento en el consumo de líquidos que tienden a dar un cuadro falso del estado de salud del paciente. ⁽¹³⁾

- La mejor es la primera orina de la mañana.
- Debe ser recogida en un frasco limpio.
- Volumen debe ser mayor a 50 ml.

EXAMEN FISICO

COLOR: Normalmente es amarillo claro.

Color	Patológicas	No patológicas
Blanco.	Quilo, Pus(muchos leucocitos)	Fosfatos.
Amarillo a anaranjado.	Bilirrubinas, urobilinas.	Acriflavinas, Azo-gantrism. Colorantes de alimentos, Nitrofurantoina. Orina concentrada, Pyridiun, Quinacrina.

		Riboflavina, Ruibarbo, Zanahoria, Sulfasalazina.
Rosado a rojo.	Eritrocitos. Hemoglobina. Mioglobina.	Aminopirina, Antipirina, Bromosulfaleina. Colorantes de alimentos, Pyridiun. Remolacha (antocianina).
Rojo castaño a purpura	Uroporfirina, Porfobilinogeno. Porfibilina.	
Castaño a negro	Ácido homogénico, Bilirrubinas. Fenol, Porphirina, Mioglobina. Metahemoglobina.	Compuesto de hierro, Cloroquina. Hidroquinona, Levodopa, Metildopa. Metronidazol, Nitrofurantoina. Quinina, Resorcinol.
Azul a verde	Biliverdina. (infección por Pseudomonas)	Acriflavina, Amitriptidina, Azul de Evans, Azul de metileno, Complejo de vitamina B.

ASPECTO:

- Normalmente es transparente.
- Puede ser turbio por: Piurias, fosfaturias, proteinurias.

DENSIDAD:

- 1.10 A 1.020
- Aumenta en diabetes mellitus y disminuye en diabetes insípida.

PH:

- Normalmente es acida (pero oscilan de 4.5 a 8.0).

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 33 - 141	

- Es muy acida en acidosis metabólica o por medicamento.
- alcalina en alcalosis metabólica.

EXAMEN QUIMICO

GLUCOSA:

- Negativo normalmente.
- Positivo si glicemia > (160-180mg/dl) aparece en la orina (glucosuria) DMI-II.
- Causa renal, glusuria renal o normogluce mica: diabetes renal, glusuria del embarazo, disfunciones tubulares. ⁽¹⁴⁾

CUERPOS CETONICOS:

- Negativo normalmente.
- Positivo, (cetonuria).puede presentase en:
 - Cetoacidosis diabética.
 - Ayuno prolongado
 - Incapacidad para metabolizar carbohidratos
 - Hiperinsulinismo con hipoglicemia.
 - Agotamiento hepático, etc.

PROTEINAS:

Normalmente hay proteínas presentes en la orina, se elimina hasta 150mg/24horas. Que incluye albumina y otras proteínas.

Causas de proteinuria:

Falsa proteinuria por leucocituria.

Extrarenal: ortostatica, benigna o juvenil, asociada a la marcha.

Renal:

Por lesión glomerular: glomerulonefritis, síndrome Nefrótico,

Hipertensión maligna, toxemia gravídica, nefropatía diabética.

Por lesión tubular: toxemia gravídica, fase de la recuperación, de la insuficiencia renal, pielonefritis, hipotiroidismo etc.

Otros: estado febril, mieloma, enfermedad de hodgkin.

Valores de referencia:

<0.5 g/l suele corresponder a indicios.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 34 - 141	

0.5-1.0 g/l	+
1 - 5 g/l	++
5 – 10 g/l	+++
>10 g/l	+++

Proteinuria selectiva: Es la más común formada por proteínas de bajo peso molecular (albumina, alfa 1 o beta) indica casi siempre lesión glomerular.

Proteína no selectiva: Presenta todas las fracciones proteicas del plasma. Suele ser también indicativa de lesión glomerular pero más grave. Ejemplo la que produce amiloidosis renal.

Proteinuria monoclonal: Proteína de Bence Jones suele traducir la existencia de un mieloma múltiple o una Macroalbuminemia de waldestrom.

Microalbuminuria: Se emplea como marcador de daño renal en hipertensos y diabéticos.

BILIRRUBINA:

Coluria: Indica la presencia de bilirrubina directa en orina que confiere una coloración amarillenta intensa que llega hasta color de cerveza oscura. Aparece en todas las ictericias obstructivas o parenquimatosas. Está ausente en las ictericias hemolíticas o prehepáticas.

La espuma, al agitar la orina esta también teñida de orina.

UROBILINOGENO

Normalmente se encuentra una pequeña cantidad en la orina (+-).

Se hace negativa cuando existe ictericia obstructiva completa esta aumentada en las anemias hemolíticas.

Nitritos:

Negativo: Normalmente

Positivo: Indicativo de infección urinaria (por la nitrato reductasa presente en las Enterobacterias).⁽¹⁴⁾

SEDIMENTO URINARIO

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 35 - 141	

Es el análisis microscópico del sedimento después de centrifugar una muestra de orina. Contribuye uno de los datos más útiles a la vez más simples para la valoración de las enfermedades del aparato urinario.

El valor del examen microscópico depende de dos factores fundamentales; el examen de una muestra adecuada y el consentimiento de la persona que realiza el examen.

Procedimiento.

- Mesclar la orina y colocar de 10 a 15 ml en un tubo de ensayo.
- Centrifugar a 2000rpm durante 5 minutos.
- Descartar el sobrenadante.
- Se dan golpecitos en la parte inferior del tubo para mesclar el sedimento.
- Se coloca una gota (aprox. 20 ul.) de este en una lámina porta objetos limpia.
- Cubrir con una laminilla cubreobjetos.
- Examinar inmediatamente primero al microscopio con 10x en busca de cilindros, cristales y elementos que se presentan en unos pocos campos.
- Con objetivo de 40x y con luz amortiguada para dar un contraste adecuado observar celularidad.⁽¹³⁾

CITOLOGICO

Leucocitos:

Normalmente 0 – 4 por campo.

> 5 leucocituria (considera patológico y sugestivo de infección).

Hematíes:

Normalmente no debe observarse.

Hematuria:> 4 células por campo

Causas:

Vías urinarias:

- Hemorragia uretral
- Vesical (traumatismos, pólipos, cáncer, cistitis)
- Prostática (prostatitis, adenoma, cáncer)

- Uretral (generalmente por litiasis renal)

Renal:

Glomerulonefritis, litiasis, traumatismos, tuberculosis renal, neoplasia, pielitis, pielonefritis riñón poliquístico.

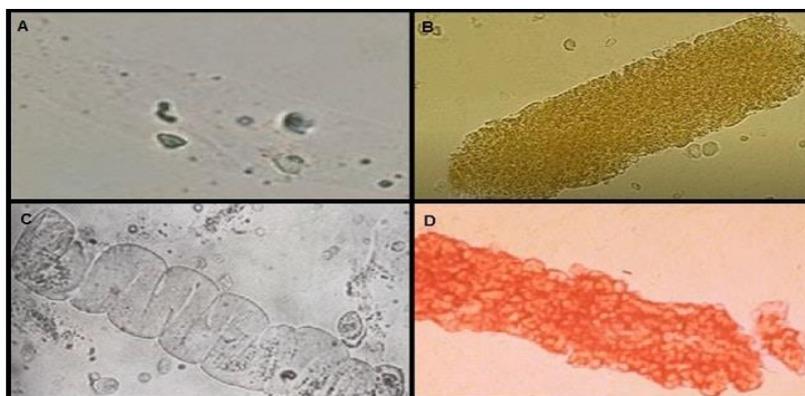
Extrarenal:

Diátesis hemorrágicas (hemofilia, purpura trombocitopenia, etc.)

Cilindros:

Conglomerado de elementos celulares o proteicos que parecen moldear los túbulos renales.

TIPOS	CONSTITUYENTES
C. Hialinos	Proteínas
C. Hemático	Hematíes
C. Hemoglobinuricos.	Hemoglobina
C. Granulosos	Proteínas, hematíes, células epiteliales.
C. Cereos	Gruesos



A: Cilindro hialino B: Cilindro granuloso, C: Cilindro Céreo, D: Cilindro hemático

Fuente: tomado del video: <https://youtu.be/Ja3QJAsWsJo>

CRISTALES:

En PH ácido pueden observarse: Ácido úrico, uratos sódicos, oxalato y cistina.

En PH alcalino pueden observarse: Fosfatos, fosfatos triples y fosfato cálcico.

OTRAS ESTRUCTURAS:

Otras estructuras que pueden aparecer en la orina son: bacterias, hongos, cilindroides, espermatozoides, moco y parásitos.

BACTERIAS: cuando una muestra de orina fresca correctamente recolectada contiene gran cantidad de bacterias, y en especial cuando esto se acompaña de muchos leucocitos, por lo general es índice de infección del tracto urinario. La presencia de bacterias se informa de acuerdo con su número (ocasional, escaso, regular, abundantes)



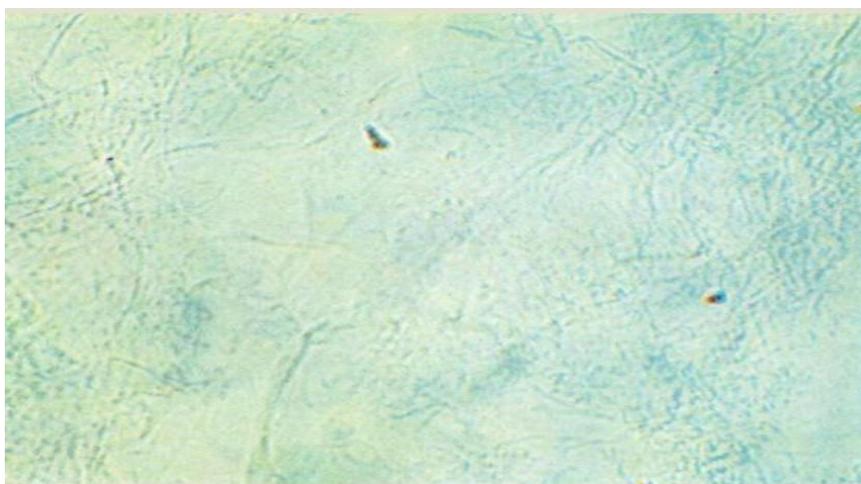
HONGOS: Los hongos son uniforme, incoloras, por lo general de forma ovoide con pared de doble refringencia pueden tener diferente tamaño y con frecuencia muestran gemación. A veces se puede confundir con glóbulos rojos pero a diferencia de estos no son solubles en ácido ni álcalis y no se tiñen con eosina.



CILINDROIDES: Se asemejan a cilindros se desconoce el sitio exacto y el mecanismo de su formación pero por lo general aparecen junto a los cilindros

ESPERMATOZOIDES: Pueden existir espermatozoides en la orina masculina después de convulsiones epilépticas, poluciones nocturnas, enfermedades de los órganos genitales y en la espermatorrea.

FILAMENTO MUCOIDE: Son estructuras de forma acinada, largas, delgadas ondulantes que pueden mostrar tenues estriaciones. Existen en la orina normal en pequeñas cantidades pero pueden ser muy abundantes en casos de inflamación o irritación del tracto urinario.



PARASITOS: Ocasionalmente se puede encontrar parásitos en la orina, sea por que ocupan el tracto urinario o como resultado de contaminación fecal o vaginal.

(15)

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de uroanálisis	Tec. laboratorio
3	Homogenizar la muestra, colocar 10 ml en un tubo cónico hacer lectura de color y aspecto, luego colocar la tira reactiva y llevar la muestra a centrifugar durante 5 minutos a 2500 rpm	Tec. laboratorio
4	Lectura de los 11 parámetros de la tira reactiva luego de 1 o 2 minutos: Ph, densidad, ácido ascórbico, cuerpos cetónicos, glucosa, proteínas, nitritos, urobilinógeno, bilirrubinas, esterasa leucocitaria, sangre.	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Eliminar el sobrenadante del tubo cónico centrifugado, cargar en un porta objeto con 20 ul del sedimento y cubrir con laminilla	Tec. laboratorio
6	Hacer lectura del sedimento urinario en microscopio a 40 X	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Células epiteliales, leucocitos, hematíes, gérmenes, pseudohifas y/o levaduras, cilindros, cristales, filamentos mucosos, parásitos, otros Si se solicita recuento de eritrocitos dimórficos reportar este resultado.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

3. PRUEBAS PARASITOLÓGICAS

El diagnóstico de las parasitosis es uno de los complementos necesarios para llevar a cabo, de manera adecuada y oportuna, su tratamiento. Las pruebas parasitológicas de diagnóstico son: ⁽¹⁶⁾

- Examen directo de heces (Examen de tinción con yodo y solución salina).
- Examen de huevos de oxiuros (test de Graham)
- Métodos de concentración de parásitos
- Método de coloraciones parasitológicas
- Pruebas serológicas

3.1 EXAMEN DIRECTO

Fundamento

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 40 - 141	

Permite observar formas evolutivas móviles o quistes, larvas o huevos de parásitos de tamaño microscópico. ⁽¹⁶⁾

Procedimiento

- Colocar una gota de solución salina y una gota de lugol en los extremos del portaobjetos y agregar con el aplicador 1 g de materia fecal (de preferencia de la parte profunda de la muestra y si hay moco), emulsionarla y cubrir con laminilla.
- Observar las preparaciones el microscopio con el objetivo de 10X y 40X en solución salina: trofozoítos y quistes, y con el lugol estructuras internas: núcleos y vacuolas.
- Recorrer la lámina en sentido direccional de abajo hacia arriba o de derecha a izquierda
- Se suele encontrar elementos normales pertenecientes a la ingesta de alimentos como: fibras vegetales, granos de almidón, esporas de hongos, granos de polen, fibras musculares lisas o estriadas, cristales de ácidos grasos, cristales de oxalato de calcio, etc.

Resultado

Registrar el nombre de la especie del parásito y su estado evolutivo.

3.2 EXAMEN DE HUEVOS DE OXIUROS (TEST DE GRAHAM)

Fundamento

Los oxiuros (*Enterobius vermicularis*), afectan frecuentemente a los niños, sus huevos de recogen de los pliegues de la piel que rodea el ano ya que raras veces se hallan en la materia fecal. ⁽¹⁶⁾

Procedimiento

- Pegar la cinta adhesiva en un porta objeto dejando que sobresalga ambos extremos de la cinta, explicar y entregar al familiar del paciente para que tome la muestra a la hora indicada.
- Obtenida la muestra (por el familiar del paciente), por el método de cinta observar al microscopio con el objetivo de 10X en busca de *Enterobius vermicularis*.

Resultado

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 41 - 141	

Registrar el nombre de la especie del parásito.

3.3 METODOS DE CONCENTRACION

Se fundamenta en el peso específico de los quistes o huevos, cuando se usa soluciones de baja densidad, los huevos o quistes sedimentan y cuando se usa soluciones de alta densidad los huevos o quistes flotan.

Antes de preparar una concentración de parásitos se debe realizar un examen microscópico directo, ya que este método hace posible que se detecten parásitos que están presentes en escaso número.

Este método puede ser por Sedimentación, Flotación o combinación de ambos. ⁽¹⁶⁾

METODO DE CONCENTRACION POR SEDIMENTACION

Técnica Sedimentación espontanea en tubo sin centrifugar

Fundamento

Se basa en lo grávido, (pesado, cargado) que pueden presentar las formas parasitarias para sedimentar espontáneamente en un medio menos denso (solución salina). Es posible la detección de quistes, ooquiste, trofozoito de protozoarios, huevos y larvas de helmintos

Procedimiento

- Colocar una porción de heces (1 gr.) en un tubo y homogenizarla con solución salina
- Filtrar el homogenizado haciendo uso de una gasa colocada en la abertura del tubo y llenarla hasta la cuarta parte
- Agregar solución salina hasta 1 cm por debajo del borde del tubo
- Tapar y agitar el tubo por 15 segundos para luego dejarlo en reposo de 30 a 45 minutos si el sobrenadante está muy turbio eliminarlo y repetir el procedimiento
- Aspirar el fondo del sedimento con la pipeta y observar con lugol estructuras internas de parásitos con mayor peso específico y con solución salina para observar formas móviles de parásitos de menor peso específico

Resultados

Informar presencia de formas evolutivas de parásitos

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 42 - 141	

Técnica de Sedimentación Rápida (TSR MSR) Concentración por Sedimentación Lumbreras et al 1962

Fundamento

Se basa en que los huevos por su tamaño y peso sedimentan rápidamente cuando se suspenden en agua

Procedimiento

- Homogenizar 8 gr. De heces en 20 ml de agua filtrada
- En la abertura de la copa colocar la coladera con la gasa para filtrar el homogenizado, llenar la copa con agua filtrada hasta 1 cm por debajo del borde y dejar sedimentar por 30 minutos
- Decantar 2/3 partes del contenido de la copa y agregar nuevamente agua.
- Repita por 3 a 4 veces hasta que el sobrenadante quede limpio
- Observar el sedimento con ayuda de una pipeta presencia de huevos

Resultados

Informar la presencia de huevos o larvas de parásitos

METODO DE CONCENTRACION POR FLOTACION

Método de Concentración por Flotación con Centrifugación en Solución de Azúcar Sheather Shugar

Fundamento

Se basa en la flotación de quistes, ooquistes, y huevos de parásitos en una solución de azúcar porque posee mayor densidad que ellos. Técnica útil para la concentración de quistes, ooquistes de protozoos y huevos de helmintos. Se usa para el diagnóstico de los coccidios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Isospora*)⁽¹⁶⁾

Procedimiento

- En un tubo de ensayo homogenizar con solución salina 2 gr. de materia fecal
- Centrifugar el tubo con el contenido homogenizado y filtrado a 2500 rpm por 5 minutos.
- Eliminar el sobrenadante y agregar la solución de azúcar hasta 1 cm del borde del tubo, agitar hasta disolver el sedimento, centrifugar como en el paso anterior

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 43 - 141	

y completar con la solución de azúcar hasta el borde, esperar durante 5 minutos la formación de un menisco.

- Tomar una muestra de la superficie del menisco y observar con lugol al microscopio si se observa coccidio de lo preparado, tomar una muestra para hacer frotis y tinción método Zielh Neelsen modificado

Resultados

Informar presencia de formas evolutivas de parásitos encontrados así como su cantidad

Método de Concentración por Flotación sin Centrifugación en Solución Sobresaturada de Azúcar (Método de Parodi Alcaraz)⁽¹⁶⁾

Fundamento

Se basa en la propiedad que tienen los quistes y /o huevos de flotar en la superficie de una solución saturada de azúcar debido a su menor densidad. Método útil para la detección de quistes de protozoarios y huevos de helmintos.

Procedimiento

- Colocar en el tubo de ensayo 2 gr. de materia fecal y agregar 5ml de solución saturada de azúcar homogenizar con un aplicador
- Completar el contenido del tubo con la misma solución de azúcar hasta formar un menisco, dejar reposar 30 minutos
- Colocar una laminilla en contacto con el menisco lo cual permitirá la adherencia por la viscosidad de los quistes y huevos, para luego colocarla sobre una lámina portaobjeto con una gota de lugol

Resultados

Observar a 10x y 40x de forma inmediata pues los quistes y/o huevos pueden deformarse si la densidad de la solución es demasiada alta

Informar nombre y estadios evolutivos de los parásitos encontrados

METODO DE RITCHIE O SEDIMENTACION POR CENTRIFUGACION Y FLOTACION (MIXTO CON FIJADOR)⁽¹⁶⁾

Fundamento

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 44 - 141	

Se basa en la concentración de quistes y huevos por sedimentación mediante la centrifugación, con la ayuda de formol y éter para separar y visualizar elementos parasitarios.

Procedimiento

- Colocar en un tubo de ensayo 2 g de muestra y homogenizar con solución salina y centrifugar x 3 minutos a 2000rpm
- Decante el sobrenadante y repetir el paso 3 veces hasta notar un sobrenadante limpio.
- Agregar al sedimento 6 ml de solución de formol al 10% homogenizar y reposar por 5 minutos, luego agregar 3 ml de éter.
- Cubrir el tubo con parafilm y agitar cuidadosamente limpiando las paredes del tubo con un hisopo si hubiera salida del sobrenadante
- Centrifugar el tubo por 3 minutos a 3000rpm y observar con lugol quistes y huevos de parásitos

Resultados

Informar nombre y estadio evolutivo del parasito además presencia de cristales charcot Leyden

METODO DE BAERMAN (METODO DE CONCENTRACION POR MIGRACION) ⁽¹⁶⁾

Fundamento

Técnica de concentración por termotropismo, hidrotropismo y geotropismo de trofozoítos de protozoos y larvas de helmintos. Se basa en crear condiciones que favorezcan la migración de larvas de la muestra fecal hasta el equipo de baerman, ya que se aprovecha el comportamiento de las larvas de migrar hacia lugares con mayor humedad, temperatura De gran utilidad para identificar ***Balantidium coli*** y larvas de ***Strongyloides stercoralis***.

Procedimiento

- Agregar sobre la gasa doblada 8 gr de materia fecal envolverla a manera de saco y colocarla sobre la coladera dentro de la copa o vaso de sedimentación
- Verter solución salina a 37° C o temperatura ambiente en cantidad suficiente por el borde del vaso o copa para luego dejar a temperatura ambiente o en una

estufa a 37°C por una hora. Las larvas migraran de las heces al suero fisiológico y caerán al fondo del vaso

- Retirar la coladera para luego obtener 1ml de sedimento con ayuda de una pipeta Pasteur
- Colocar el sedimento en una lámina cavada y observar al microscopio o estereoscopio trofozoítos y larvas en movimiento

Resultados

Informar nombre y estadio evolutivo del parasito observado



METODO DE LAS COLORACIONES PARASITOLÓGICAS

Método de Ziehl Neelsen modificado para observación de coccidios *Cryptosporidium* y otros. ⁽¹⁶⁾

Fundamento

Se basa en comportamiento acido-resistente de la cubierta de estos parásitos, cuyos ooquistes se tiñen de rojo sobre un fondo verde o azul dependiendo del colorante de contraste usado.

Procedimiento

- Hacer un frotis de heces en un portaobjeto con ayuda de un aplicador y dejar secar para luego fijar con alcohol metílico x 5 minutos dejar secar
- Agregar hidróxido de sodio por 1 minuto luego lavar
- Cubrir con fucsina fenicada diluida en agua al tercio (1 ml de colorante y 2 ml de agua) por 5 minutos luego lavar
- Decolorar con alcohol-acido (alcohol 96% de 1 a 3% con ácido clorhídrico) cubriendo portaobjetos por unos segundos luego lavar

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 46 - 141	

- Colocar colorante de contraste verde de malaquita o azul de metileno durante 5 minutos diluidos previamente a tercio luego enjuagar y secar
- Observar al microscopio con objetivo de inmersión los quistes AAR de estos parásitos no se decoloran permanecen de color rojo fucsia sobre un fondo verdoso (verde de malaquita) o azul (azul de metileno)

Resultados

Observar ooquistes de *Cryptosporidium*, *Isospora* aparecen de color rojo fucsia sobre un fondo verdoso



Coloración Wright

Fundamento

Técnica que permite la identificación de diferentes fases de protozoos y helmintos presentes en la sangre las cuales se diferencia por el contraste.

Procedimiento

- Preparar, un extendido fino que consiste en una sola capa de células sanguíneas haciendo uso de un portaobjetos.
- Dejar secar la muestra al ambiente y proceder a colorear la lámina por un tiempo de 3 minutos, enjuagar suavemente con agua corriente dejar secar al ambiente y observar con objetivo de inmersión.

Resultado

Observar diferentes estadios del parasito. Presente en el extendido de células sanguíneas



3.5 PRUEBAS SEROLOGICAS ENZIMOINMUNOENSAYO

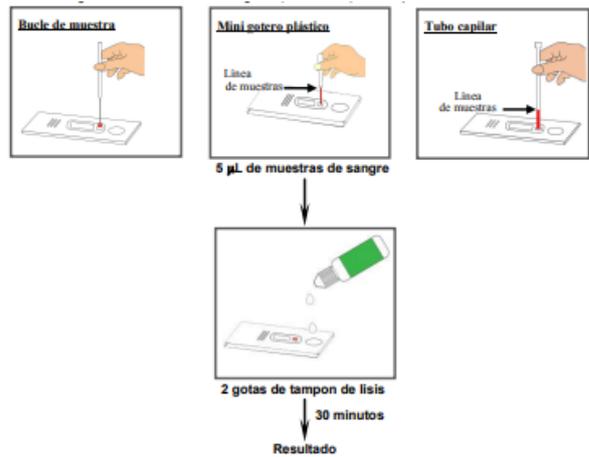
Prueba Rápida para Malaria Pf Pv Antígeno

Fundamento:

Immunoensayo cromatógrafo de flujo lateral que permite la detección y diferenciación de Antígeno *vivax* y *Plasmodium falciparum*.⁽¹⁷⁾

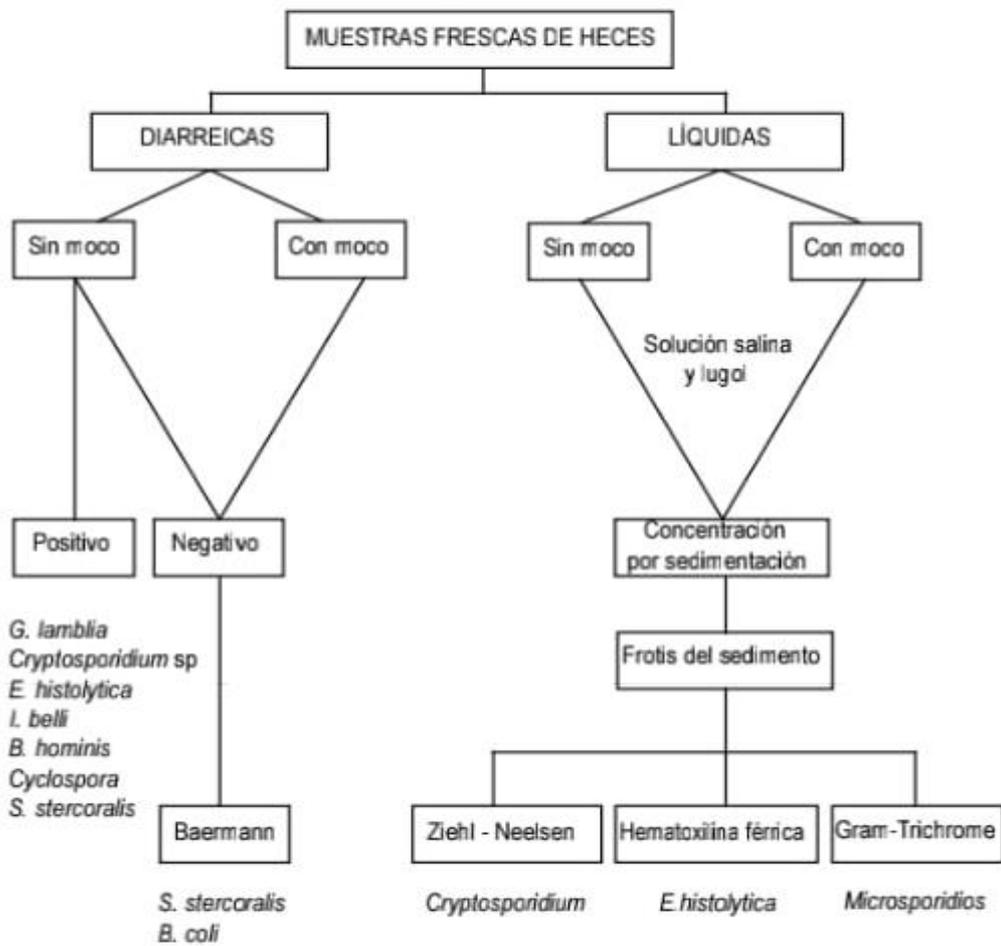
Procedimiento

- Retirar el dispositivo de la bolsa para rotularle con la información de paciente y colocarlo sobre una superficie plana
- Llene el dispositivo de transferencia de sangre con la muestra de sangre sin exceder la línea de muestra el volumen alrededor de 5 ul
- Verter toda la muestra en el centro de la cavidad para muestras teniendo cuidado de no ingresar burbujas luego añadir 2 gotas de tampón de lisis
- Esperar 30 minutos para luego hacer lectura si además de la presencia de la banda C aparecen las bandas Pv y Pf la prueba es positiva indicando presencia de dos antígenos.
- Esperar 30 minutos para luego hacer lectura si además de la presencia de la banda C aparecen las bandas Pv y Pf la prueba es positiva indicando presencia de dos antígenos.



ALGORITMO PARA EL EXAMEN PARASITOLÓGICO. ⁽¹⁶⁾





N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema PAKARAMUROS SOFT y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado al área de parasitología	Tec. laboratorio
	Se verifica en el sistema PAKARAMUROS SOFT el análisis y la metodología solicitada	Tec. laboratorio
3	Después de realizar la metodología solicitada, en un extremo de una lámina portaobjeto, colocar una gota de solución salina y en el otro extremo una gota de lugol y agregar 1g. de materia fecal previamente homogenizada, luego cubrir con laminilla.	Tec. laboratorio
4	Realizar la lectura de las preparaciones según la técnica solicitada al microscopio con el objetivo de 10X y 40X o 100x en las técnicas colorimétricas o Inmunoensayo.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Indicando la especie del parásito encontrado y su forma evolutiva. En solución salina: trofozoito y quistes, y con el lugol estructuras internas: núcleos y vacuolas. También anotar hallazgo de estructuras no parasitológicas de interés clínico (gotas de grasa, levaduras, restos alimenticios, etc.)	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

4. COPROLOGICO FUNCIONAL

El Examen **Coprológico Funcional**, es un conjunto de pruebas que brindan información con respecto a diarreas crónicas, procesos inflamatorios intestinales entre otros. Este examen se realiza en tres fases: ⁽¹⁸⁾

FASE MACROSCÓPICA: En esta fase se informa sobre las características físicas de la muestra, color, consistencia, olor, presencia de moco, restos de alimentos, elementos anormales.

FASE QUIMICA: Se reporta pH, presencia de Almidón, Sustancias Reductoras (Carbohidratos) y Sangre Oculta.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 51 - 141	

FASE MICROSCOPICA: Aquí se identifican, las diferentes formas parasitarias: Huevos, Quistes, Parásitos adultos. Presencia de Leucocitos (Polimorfos nucleares), Hematíes, Reacción Inflamatoria, presencia de grasa microscópica, algunos cristales, levaduras, entre otros.

Preparación del paciente:

- No use laxantes para obtener la muestra.
- Evacue las heces directamente en un envase limpio (bacinica o similar).
- No evacue nunca en la taza del inodoro.
- Use la cuchara que viene en la tapa del frasco para recolectar una pequeña parte de las heces, del tamaño de una aceituna.
- De ser posible, escoja la parte de las heces que tengan sangre, moco o pus.
- Si las heces son líquidas, llene el frasco hasta la marca 5 ml.
- No mezcle las heces con la orina.
- Envíe las heces inmediatamente al laboratorio, de no ser posible coloque en el refrigerador (no congelar) y envíe antes de las dos horas.
- No recolecte la muestra después de una radiografía (Nota muy importante en la realización del examen) de tubo digestivo.

Otras indicaciones: Suspender por lo menos por 3 días la ingestión de: carnes rojas, uvas, betarragas, remolachas, tomates, brócoli, alimentos y bebidas con colorantes, y medicamentos (antiinflamatorios, aspirina, ácido cítrico y antiácidos).

I. EXAMEN MACROSCOPICO:

Se debe observar las siguientes características en las heces:

1. **CONSISTENCIA:** Dura o formada, Blandas, Pastosas, de aspecto moldeado, Diarreicas, Líquidas o Semidiarreicas, Caproica: con forma de bolas.
2. **COLOR:**
 - El color normal de las heces es castaño oscuro o marrón.
 - Color Blanco grisáceo: dado por una ictericia obstructiva, ausencia de pigmentos biliares.
 - Color Amarillo: Leche o presencia de Bilirrubina inalterada.
 - Color Verde: Ingesta espinacas y de vegetales clorofílicos. Se presenta en la diarrea infantil (Biliverdina).
 - Color Rojizo: por hemorragia digestiva baja (Hemorroides, tumor de colon). También estrías rojas

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 52 - 141	

- **Color Gris Oscuro:** Ingesta de grandes cantidades de chocolate o cacao.
- **Negras:** causada por una hemorragia digestiva alta; presencia de Hierro o Bismuto

3. MOCO: Cuando existe una reacción inflamatoria en las heces hay presencia de moco fecal. El análisis del mismo ayuda para el diagnóstico rápido de algunas infecciones intestinales bacterianas.

Se reporta en cruces según la presencia

4. SANGRE: Indica pérdida de +/- 0.50 a 0.75 ml de sangre de la parte Superior del aparato Gastrointestinal. Una **prueba positiva** para sangre oculta se debe a alguno de estos padecimientos: Carcinoma de colon. Colitis ulcerativa. Adenoma. Hernia diafragmática. Carcinoma gástrico. Diverticulitis.

Se reporta como sangre visible

II. EXAMEN QUIMICO:

Se debe observar las siguientes características en las heces:

1. Lectura de Ph:

La lectura se puede realizar con la utilización de tiras reactivas de pH. Con rango de pH de 0 - 14

Normalmente el pH de las heces es neutro (6.9 – 7.2)

PH Acido: los azúcares reductores que no se absorben, fermentan y generan: ácido láctico, ácido acético, ácidos grasos de cadena corta, con ello el pH baja. Por ejemplo: en Amebiasis y presencia de carbohidratos, presencia de levaduras el pH está por debajo de 4.5.

PH Alcalino, en las diarreas de putrefacción, también suele ser alcalino en evacuaciones de enfermos con insuficiencia gástrica descompensada, diarrea gástrica, shigellosis y exceso de consumo de proteínas.

2. Determinación de Almidón:

Sobre una suspensión heces se deja caer unas gotas del Reactivo Lugol parasitológico, el cual facilita la observación de los gránulos de almidón y otras formas (parásitos). Aparecen:

Almidón Crudo: Proviene de la harina superficial del pan, o de frutas crudas, se le reconoce por sus líneas concéntricas (preparaciones sin teñir). Con solución de lugol, almidón crudo aparece coloreado de negro.

Almidón Cocido: Este puede ser: **Almidón Amorfo**, en forma de pequeños acúmulos fuera de la célula vegetal, con el Lugol forma manchas irregulares de color azul.

Almidón Incluido, Está dentro de la cubierta celulósica de las células de legumbres cocidas; se tiñen de azul con lugol.

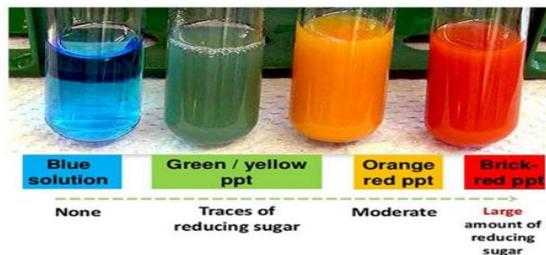
3. Sustancias Reductoras (BENEDICT):

Fundamento: Esta prueba detecta azúcares reductores en heces mediante el análisis químico de la muestra. El método cualitativo con reactivo de Benedict, contiene ion cúprico formando un complejo con citrato en solución alcalina caliente. La glucosa y otras sustancias reductoras, reducen el sulfatocúprico (Cu^{2+}) de color azul a sulfatocuproso (Cu^2) formando hidróxido cuproso amarillo o de óxido cuproso rojo que es insoluble.

Procedimiento:

- En un tubo de ensayo colocar 1ml de reactivo de Benedict.
- Agregar una gota de muestra (40ul) en caso de heces líquidas o 2 gramos en caso de muestra de heces no líquidas.
- Homogenizar.
- Calentar con mechero hasta ebullición.
- Examinar si hay cambios de color después de unos minutos para verificar la presencia de precipitados.
- Se da positivo seguido de la intensidad de la reacción en cruces:
 - (+) Verde con precipitado amarillo.
 - (++) Amarillo o Mostaza.
 - (+++) Naranja.
 - (++++) Rojo ladrillo.

Escala de colores del Reactivo BENEDICT



4. SANGRE OCULTA (THEVENON):

Fundamento: La prueba de sangre oculta en heces es una prueba cualitativa que detecta la hemoglobina humana en muestras fecales humanas, se realiza con reactivos o Prueba Rápida FOB. Los reactivos son sustancias cromógenas (dan color), Peróxido de Hidrogeno agua Oxigenada y Ácido Acético. El Ácido Acético, rompe los eritrocitos células de la sangre y así el piramidón se une al grupo HEMO de la hemoglobina y reacciona dando un color violeta o azul, que sería la señal de la presencia o existencia de sangre.

Procedimiento:

Método tradicional:

- En un tubo de ensayo colocar aproximadamente 1 o 2 gramos de heces.
- Añadir 1 a 2 ml de solución salina
- Agitar hasta q se mezcle en forma uniforme.
- Agregar Ácido Acético 3 a 5 gotas por las paredes del tubo.
- Inmediatamente añadir 3 a 5 gotas de agua oxigenada.
- Y por último se agrega 5 gotas de piramidón por las paredes del tubo.
- Esperar unos minutos y ver la formación de un anillo color violeta, thevenon Positivo.
- Reacción incolora es negativa.

Prueba Rápida:

- Las muestras de heces se pueden recolectar en cualquier momento del día, en un recipiente limpio y seca
- Desenroscar la tapa del tubo de recolección y retirar la varilla aplicadora e insertarlo en la muestra fecal en varios sitios diferentes

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 55 - 141	

- Insertar el aplicador muestreado en el tubo y apretar la tapa y agitando enérgicamente unos 5 segundos para liberar y dispersar la muestra de heces en la solución tamponada de recolección.
- Retirar la tarjeta de prueba de la bolsa de aluminio sellada
- Sostener el tubo en posición vertical

III. EXAMEN MICROSCOPICO:

Para realizar este examen es necesario realizar una suspensión con solución salina, mientras que en otra se agrega SUDAM III, que tiñe de rojo los lípidos y otras con lugol que permite observar los gránulos de almidón y formas quísticas de parásitos.

Restos de Alimentos:

a. Fibras Musculares: Se les encuentra en escaso número, pero suele ser mayor dependiendo de la cantidad de carne q se haya comido. Fibras musculares bien digeridas aparecen como cuerpos ovales de extremos redondeados; la estriacion longitudinal son imperceptibles. Mal digeridas son largas de extremos cuadrangulares y estrías longitudinales y transversales visibles. Ingeridas: como las anteriores pero con núcleos visibles.

b. Lípidos: Se observan como gotas de tamaño variable o formando lagunas muy refringentes. Las grasas neutras se colorean con SUDAM III y de color negro, forman el 5% de los lípidos normales en las heces.

Los ácidos grasos se presentan como agujas duras y largas, a veces juntas esas agujas entrecruzadas y puntas afiladas.

c. Tejido Conjuntivo: Se presenta como restos de aspecto fibroso como tejido fino y fibras sueltas. Las fibras elásticas son más refringentes q las colágenas. La presencia de este indica insuficiencia gástrica.

d. Celulosa digerible: Forma las paredes de las legumbres cocidas, so típicas de la papa. Normalmente se encuentra poca cantidad de celulosa digerible; su aumento indica tránsito intestinal acelerado, pero no déficit secretor.



Cristales:

En las heces se pueden encontrar cristales de fosfato amónico magnésico. De Oxalato de Calcio y de Charcot-Leyden. De poca importancia clínica.

Eritrocitos: Son difíciles de observar, pero su presencia indica hemorragia rectal o anal.

Leucocitos: Se observan de un aspecto granuloso. Normalmente las preparaciones hechas con Azul de metileno, se usan para detectar leucocitos o bien si es posible analizar preparados secos de heces con tinción GRAM para comprobar la presencia de leucocitos.

Cuando existe una reacción inflamatoria en las heces hay presencia de moco fecal. Este análisis ayuda para el diagnóstico rápido de alguna infección intestinal bacteriana, se le añade Azul de Metileno y se observa al microscopio e informar rápidamente el total de leucocitos y porcentaje de polimorfonucleares.

Células: Se encuentran células epiteliales alteradas, por lo común sin importancia clínica.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 57 - 141	

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Homogenizar la muestra, realizar las tres fases del procedimiento: Fase macroscópica, química y microscópica.	Tecnólogo médico o Biólogo
4	Realizar la lectura de los procedimientos del paso anterior	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Fase física: color consistencia, presencia de moco, sangre visible, restos alimenticios, elementos anormales. Fase química: Ph, presencia de almidón, sustancias reductoras, sangre oculta en heces. Fase microscópica: Leucocitos, eritrocitos, estructuras parasitarias, cristales, levaduras, restos alimenticios, fibras musculares, lípidos, granos de almidón, etc.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

5. TEST DE ASS

Fundamento:

Es una prueba de turbidez con ácido Sulfosalicílico de fácil aplicación, eficaz, rápida, económica y reproducible, por su alta especificidad es ideal para la confirmación de proteinuria en las gestantes hipertensas. Normalmente se excreta una cantidad mínima de proteínas en orina, en casos patológicos dicha cantidad se incrementa. Al mezclar la orina con el Ácido Sulfosalicílico, se produce desnaturalización de las proteínas, las cuales al perder su solubilidad enturbian la mezcla en forma proporcional a la concentración proteica. ⁽¹⁹⁾

Procedimiento:

- Centrifugar aproximadamente 10 ml de muestra a 2500 RPM por diez minutos.
- Luego utilizar el sobrenadante obtenido.
- Colocar 3.5 mL de Ácido Sulfosalicílico al 3%. Y agregar 1.5mL de orina centrifugada. Mezclar bien

Cálculos de resultados:

Negativa: No existe turbidez

Trazas: se percibe turbidez sólo contra un fondo negro

+	Se observa turbidez pero no es granular
+	Se observa turbidez y es granular
+++	La turbidez es considerable y existe aglutinación
++++	La nube es densa con masa granular aglutinada de gran tamaño que puede solidificarse

Resultados falsos positivos:

Estos pueden producirse con el tratamiento de tolbutamida, dosis masiva de penicilina, sulfamidas y hasta tres días después de la administración de sustancias de contraste radiológico.

Resultados falsos negativos:

Orinas muy alcalinas y muestras muy diluidas

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Homogenizar la muestra, colocar 10 ml en un tubo cónico centrifugar durante 10 minutos a 2500 rpm	Tec. laboratorio
4	Trasvasar 1.5 ml del sobrenadante a un tubo de ensayo	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Colocar 3.5 ml de ácido Sulfosalicilico al tubo de ensayo y homogenizar	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Hacer lectura de la intensidad de turbidez contra un fondo oscuro	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: intensidad de cruces (1+,2+,3+,4+)	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados será dentro de la primera hora de recepcionada la muestra.	Tec. laboratorio

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 59 - 141	

6. EXAMEN DIRECTO DE HONGOS

Fundamento:

Los hongos productores de micosis superficiales y cutáneas se encuentran asociados al extracto corneo de la epidermis siendo necesario tratar las escamas para eliminar la queratina y liberar las estructuras micóticas para su observación microscópica. El hidróxido de potasio al 10% (KOH al 10 %), disuelve la queratina sin afectar la morfología de las estructuras fúngicas. ⁽²⁰⁾

Tipo de muestra:

- Pelos
- Escamas
- Trozos de uñas
- Raspados de piel.

Procedimiento:

- Para evitar un falso negativo la muestra no deberá tomarse cuando el paciente haya usado talco, cremas el día del examen o se encuentre en tratamiento antimicótico los últimos 5 a 10 días.
- La zona de la lesión se desinfectara con gasa humedecida en alcohol de 70° no usar torundas de algodón, con ayuda de un bisturí estéril se procederá a raspar de las márgenes de la lesión, se recomienda tomar de varias lesiones para obtener mayor cantidad de escamas en un frasco estéril. Si al paciente no se evidencia escamas raspar la lesión con un bisturí, sobre esta pegar cinta adhesiva frotando firmemente luego colocarla sobre un portaobjeto.
- Una vez terminado llevar las muestras al área de microbiología.
- Colocar la muestra en un par de láminas y se incuban con KOH al 10% por espacio de 10 minutos cubriéndolos con laminillas, con la finalidad de permitir al KOH al 10% digerir el material proteico ayudándonos a mejorar la nitidez de los elementos fúngicos.
- Pasado el tiempo de incubación se procede a la visualización microscópica buscando estructuras fúngicas. ⁽²⁰⁾

Cálculos de resultados:

NEGATIVO: Si no observa nada se reporta: NO SE OBSERVA ESTRUCTURAS FUNGICAS

POSITIVO:

En caso de Lesiones y/o herida, aspirados, esputos, etc. Se reporta como: SE OBSERVAN PSEUDOHIFAS

En raspados se reporta como:

- PRESENCIA DE HIFAS HIALINAS TABICADAS O AMBAS
- PRESENCIA DE LEVADURAS
- PRESENCIA DE HIFAS Y LEVADURAS

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de microbiología	Tec. laboratorio
3	Colocar porciones de muestra en láminas portaobjeto, agregar 2 a 3 gotas de Hidróxido de potasio al 10%, cubrir con laminilla e incubar a temperatura ambiente aproximadamente 10 minutos	Tec. laboratorio
4	Hacer lectura de las preparaciones en microscopio a 40 X	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Ausencia de estructuras fúngicas o presencia de hifas hialinas tabicadas o ambas, presencia de levaduras.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

7. TEST DE HELECHO

Fundamento:

Test de helecho o cristalización es un método utilizado para el diagnóstico de ruptura temprana de membrana (RPM), las membranas se rompen durante el trabajo de parto, pero en algunas veces las membranas se rompen antes del trabajo de parto. El líquido amniótico compuesto por mucina y cloruro de sodio tiene la propiedad de formar arborizaciones cuando se deposita en un portaobjetos y se deja secar. ⁽²¹⁾

Procedimiento:

La muestra de moco cervical extendida en la lámina portaobjetos, se observa directamente en el microscopio, con el objetivo de 10x, buscando los característicos patrones de “arborización en helecho”.

Resultado:

Positivo: Se observa arborización tipo helecho

Negativo: No se observa

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	La muestra se observa al microscopio a 10 X inmediatamente	Tecnólogo médico o Biólogo
4	Lectura: Se busca el patrón de arborización	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	La entrega de resultados será inmediatamente después de la lectura.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 62 - 141	

8. EXAMEN DIRECTO DE SECRECIÓN VAGINAL

Fundamento

El examen directo de secreción vaginal es de gran valor para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, en condiciones normales la vagina esta colonizada por gérmenes que conviven en armonía formando el ecosistema vaginal. Este examen se basa en la identificación bacteriana, candidiasis vaginal o tricomoniasis. ⁽²²⁾

Procedimiento:

- La toma de muestra es tomada del conducto cervical por personal de obstetricia quien realizara inmediatamente el test de aminas.
- Se recibirá un tubo con hisopo y solución salina fisiológica, dos frotis de secreción vaginal uno del exocervix para la observación directa y el otro del endocervix para la coloración Gram.
- Examen directo en fresco: A la lámina portaobjeto con el frotis del exocervix colocar una gota del tubo de solución salina fisiológica cubrir con laminilla y observar a 40 x, detallar la presencia de leucocitos, hematíes, levaduras, pseudohifas, Trichomonas y células guía.
- Tinción Gram: A la lámina del endocervix realizar coloración Gram, observar con objetivo de inmersión y detallar la presencia de cocobacilos Gram negativos adheridos a los bordes de la pared de las células epiteliales vaginales denominadas células guía, presencia de bacilos curvos Gram negativos puntiagudos en forma de media luna “mobiluncus”, diplococos intracelulares, Polimorfonucleares.

Resultados:

En la observación directa: Presencia de Trichomonas, levaduras hifas, leucocitos, hematíes, Células guía

En coloración Gram: Polimorfos nucleares, diplococos intracelulares Gram negativos otros morfotipos bacterianos.

Valores de referencia:

En el fluido de secreción vaginal se encuentra bacterias propias de la flora normal como bacilos Gram positivos

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado al área de microbiología.	Tec. laboratorio
3	Realizar la observación directa: en la lámina portaobjeto con frotis del exocervix colocar una gota de SSF, cubrir con laminilla observar a 40 X	Tecnólogo médico o Biólogo
4	Coloración Gram: colorear la lámina del endocervix y observar a 100 X	Tec. laboratorio
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Examen directo en fresco: leucocitos, hematíes, Trichomonas, levaduras, pseudohifas, células guía. Coloración Gram: Polimorfos nucleares, diplococos intracelulares cocobacilos Gram negativos, otros morfotipos bacterianos.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

9. EXAMEN DIRECTO DE SECRECIÓN URETRAL

Fundamento:

En la uretritis gonocócica el germen responsable es *Neisseria gonorrhoeae* y en las uretritis no gonocócica los gérmenes suelen ser *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureoplasma urealyticum*, *Mycoplasmas*. Este examen se basa en la identificación de Diplococos Intracelulares Gram negativos arriñonados se considera diagnóstica para gonorrea y se considera un apoyo para complementar el diagnóstico clínico. ⁽²³⁾

Condiciones previas del paciente:

- Abstinencia sexual de 72 horas
- No aplicar cremas ni tomar antibióticos
- Retención urinaria mínimo 3 horas
- Utilizar hisopos de baja toxicidad como dracrón o alginato de calcio

Procedimiento:

- La muestra debe obtenerse directamente de la uretra o de un exudado exprimiendo la uretra.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 64 - 141	

- Si hay presencia de secreción purulenta recoger la muestra directamente con un hisopo.
- Si no se evidencia secreción introducir rotando el hisopo de 1 a 3 cm el en el meato uretral, rotar y presionar las paredes de la uretra de 5 a 10 segundos luego retirar el hisopo rotándolo.
- Colocar un hisopo en Solución Salina Fisiológica con muestra, para el examen directo.
- Preparar frotis tan finos como sean posibles y que abarquen una buena extensión en lámina porta – objeto. Para evitarse alteraciones de morfología celular, no debe frotarse vigorosamente y dejar secar a temperatura ambiente
- Colorear bajo la Técnica de Coloración de Gram.
- Observar con aceite de inmersión a objetivo de 100X

Resultado:

Positivo: Si se observa la presencia de Diplococos Gram Negativos intracelulares típicos (ovales, de formas arriñonadas agrupadas en pares) o presencia de otros agentes infecciosos.

Sospechoso: Si sólo se observan Diplococos Gram Negativos extracelulares.

Negativo: Si no se observan Diplococos Gram Negativos.

El informe también debe indicar presencia y cantidad de polimorfos nucleares ya que este dato puede indicar una infección no gonocócica por otro microorganismos. ⁽²³⁾

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros.	Tec. laboratorio
2	Se dirige al paciente al área adecuada para la toma de muestra y se le explica el procedimiento	Tec. laboratorio
3	Tomar la muestra dependiendo si el paciente presenta o no secreción uretral	Tecnólogo médico o Biólogo
4	Un hisopo se coloca en solución salina fisiológica y con otro hisopo se realizan los frotis	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Realizar coloración Gram a uno de los frotis y preparar la muestra para la observación directa.	Tec. laboratorio
6	Realizar las lecturas del examen directo a 40 X y de la coloración Gram a 100 X	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Examen directo en fresco: leucocitos, hematíes, Trichomonas, levaduras, pseudohifas Coloración Gram: Polimorfos nucleares, diplococos intracelulares, otros morfotipos bacterianos	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 66 - 141	

10. EXAMEN DIRECTO DE ÁCAROS

Fundamento:

La Escabiosis es una infección de la piel producida por el ácaro *Sarcoptes scabiei* de la variedad *hominis*, que produce una erupción intensamente pruriginosa, con un patrón de distribución característico, que se transmite por contacto directo o fómites (especialmente ropa, donde el parásito permanece viable por 2-5 días). El examen directo está basado en la visualización del ácaro en forma directa mediante los raspados con bisturí en la zona afectada. ⁽²⁴⁾

Procedimiento:

- Se escogen las lesiones enrojecidas o posiblemente afectadas por el parásito raspando la piel con bisturí en un frasco estéril.
- Colocar sobre la piel que se hizo el raspado cinta adhesiva y frotar vigorosamente luego pegarla sobre un portaobjeto.
- Se coloca la muestra en una lámina portaobjeto
- Se incuban con solución salina fisiológica o con una gota de aceite de inmersión cubriéndolos con laminillas.
- Se procede a la visualización microscópica buscando los ácaros.

Resultado:

Positivo: Se identifica al parásito adulto o huevos que normalmente no deben encontrarse ácaros en la piel.

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Colocar las muestras sobre un portaobjeto agregar solución salina fisiológica o una gota de aceite de inmersión	Tec. laboratorio
4	Lectura de las preparaciones al microscopio a 40 X	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Identificación del parásito en forma adulta o huevos	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

11. INVESTIGACION DE CRYPTOCOCCUS

Fundamento:

La detección de criptococos mediante examen microscópico directo, es una prueba de laboratorio basada en la tinción negativa con tinta china. La detección de *Cryptococcus* se puede realizar en muestras de líquidos corporales y/o secreciones. Se utiliza tinta china como solución de contraste, no de coloración, que al añadirse a la muestra producirá un campo oscuro y que al no penetrar los polisacáridos capsulares del hongo levaduriforme se permitirá visualizar un halo transparente que corresponde a la capsula del *Cryptococcus*, permitiendo hacer un diagnóstico presuntivo de criptococosis. ⁽²⁵⁾

Tipo de muestra:

- LCR: muestra de elección ante sospecha de Criptococosis meníngea.
- Otras muestras según foco de infección: Lavado broncoalveolar (LBA), esputo, orina, suero, exudado de úlceras.
- La obtención de muestra de LCR se realizará por el personal médico, el volumen mínimo será de 1 ml y recolectado en un frasco estéril.

La muestra será transportada inmediatamente hacia el área de recepción de las muestras del servicio de Patología.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 68 - 141	

Las muestras deben transportarse en un cooler y a una temperatura ambiente junto con su solicitud médica respectiva

Procedimiento:

- En un microtubo colocar 1 ml de la muestra de LCR
- Centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos
- Retirar el sobrenadante y trabajar con el precipitado homogenizado.
- Colocar sobre un portaobjetos 1 gota de tinta china y 1 gota del precipitado.
- Homogenizar y cubrir con un portaobjetos.
- Llevar el preparado al microscopio y observar con objetivo de 10X (campo panorámico) luego a 40X y buscar las células levaduriformes encapsuladas.
- Posterior a la lectura realizar la eliminación del portaobjetos con muestra dentro del contenedor del desecho biocontaminados.

Resultado:

Negativas: Ausencia de halos claros alrededor del microorganismo *C. neoformans* spp sobre un fondo oscuro de tinta china.

Positivas: Se observa la presencia de 1 o más halos claros alrededor del microorganismo *C. neoformans* spp sobre un fondo oscuro de tinta china.

Se recomienda, ante una muestra con resultado negativo de Tinta china este sea confirmado con un cultivo, debido a la posibilidad de resultados falsos negativos que pueden ser atribuidos a la existencia de organismos criptococócicos con cápsulas muy pequeñas, pudiendo ser poco manifiestos al microscopio.

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Centrifugar la muestra a 3000 rpm por 10 minutos Retirar el sobrenadante y trabajar con el precipitado homogenizado. Colocar sobre un portaobjetos 1 gota de tinta china y 1 gota del precipitado. Homogenizar y cubrir con un portaobjetos.	Tecnólogo médico o Biólogo
4	Llevar el preparado al microscopio y observar con objetivo de 10X (campo panorámico) luego a 40X y buscar las células levaduriformes encapsuladas. Posterior a la lectura realizar la eliminación del portaobjetos con muestra dentro del contenedor del desecho biocontaminado.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Se observa la presencia de 1 o más halos claros alrededor del microorganismo <i>C. neoformans</i> spp sobre un fondo oscuro de tinta china.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

12. IDENTIFICACION DE BARTONELLA

Fundamento:

Este examen se basa en la identificación de la bacteria *Bartonella* causante de la Enfermedad de Carrión en una muestra frotis sanguíneo, siendo este método sencillo y de bajo costo para este diagnóstico, pero poco sensible (36%), y depende principalmente de una buena toma de muestra y de personal debidamente capacitado para la lectura del frotis. Durante la fase aguda el frotis sanguíneo es el más práctico y se pueden observar las formas bacilares intracelulares (forma toxica de la bacteria), un frotis positivo confirma el diagnostico pero un frotis negativo no lo descarta. ⁽²⁶⁾

Muestra:

- Frotis sanguíneo de sangre periférica en láminas portaobjetos

Procedimiento:

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 70 - 141	

- El frotis sanguíneo se realiza utilizando una lámina auxiliar, poniéndola en contacto con la superficie de la lámina que contiene la gota, hacerla correr firmemente a lo largo de su borde en un ángulo de 45 grados.
- Dejar secar y fijar con metanol
- Realizar el preparado 10 o 20 minutos antes de la tinción
- Colorear el frotis con Giemsa filtrado diluido en agua destilada en proporción 1:10 durante 15 minutos (la dilución y el tiempo de coloración se ajusta de acuerdo con las características del colorante preparado).
- Lavar el exceso de colorante con agua corriente y esperar que sequen a medio ambiente y observar al microscopio con objetivo de inmersión (100X) el frotis buscando las diferentes formas de la bacteria *Bartonella* (cocoide, cocobacilares o bacilar).
- En la lectura se debe tener en cuenta: Índice de bacteriemia, forma de las bacterias
- En función a estos parámetros se deben emitir los resultados para el pronóstico médico.
- Se lee de 50 a 100 campos por lámina con la muestra de frotis sanguíneo con aceite de inmersión a 100 X, buscando la presencia de formas cocobacilares, bacilares o cocoides que se encuentran dentro de los hematíes.
- Las formas cocoides se encuentran en pares o cadenas. Si se observa un solo hematíe con forma cocoide es preferible revisar toda la lámina, es posible que no sea la forma cocoide sino algún artefacto.
- En un frotis positivo, se observan hematíes deformados y muchas veces toman la forma ameboide.
- El resultado de la lectura del frotis sanguíneo se expresa en porcentaje de hematíes infectados, para lo cual se cuenta 100 hematíes y se determina cuántos están infectados.
- Si se observa que las células infectadas son más del 50%, se leerán 50 campos.
- Si se observa que las células infectadas son menos del 50%, se leerán 100 campos.
- Si se observa que el porcentaje de hematíes infectados es menor a 5%, se debe leer toda la lámina.
- En el reporte se debe colocar las formas bacterianas observadas, ya sea bacilar, cocobacilar o cocoide.

- En la fase aguda de la enfermedad se observan predominantemente formas bacilares de color rojizo o violeta, separadas o en grupos dentro de los hematíes; con menos frecuencia se ven formas cocoides. ⁽²⁶⁾

Resultado:

- < del 1 % : Menos de 1 bacteria /campo en 100 campos
- 1 % : 1 de bacteria / campo en 100 campos
- o 3 % : Cuando se observa más de 1 bacteria / campo en 100 campos

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de microbiología.	Tec. laboratorio
3	Homogenizar la muestra (tubo lila), colocar 10 ul de sangre a 1 cm del externo de la lámina portaobjeto y realizar el frotis con otra lamina a 45° Dejar secar a temperatura ambiente y fijar con metanol Colear por 15 minutos con Giemsa diluido 1:10 Lavar y secar a temperatura ambiente	Tec. laboratorio
4	Hacer lectura del frotis colocando una gota de aceite de inmersión y leer al microscopio a 100 X	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: En la lectura se debe tener en cuenta: Índice de bacteriemia, forma de las bacterias Se lee de 50 a 100 campos por lámina con la muestra de frotis sanguíneo con aceite de inmersión a 100 X, buscando la presencia de formas cocobacilares, bacilares o cocoides que se encuentran dentro de los hematíes. < del 1 % : Menos de 1 bacteria /campo en 100 campos 1 % : 1 de bacteria / campo en 100 campos o 3 %: Cuando se observa más de 1 bacteria / campo en 100 campos.	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 72 - 141	

13. IDENTIFICACIÓN DE LEISHMANIA

Fundamento:

Este examen se basa en la identificación del parásito en su forma evolutiva de amastigotas los cuales se encuentran dentro de los macrófagos, estos tienen formas redondeadas y en el citoplasma se nota el núcleo y el kinetoplasto. Se recomienda la toma de muestra de los bordes de la lesión o inyectando intradérmicamente algunas gotas de suero fisiológico en el borde de la lesión y luego aspirarlo: en caso de múltiples lesiones tomar la muestra de lesiones más recientes. Para el diagnóstico de leishmaniasis se requiere de muestras de linfa, frotis de tejido, exudado y biopsias. Las biopsias deben ser realizadas por el médico o por personal de salud capacitado. A pesar de su baja positividad es de bajo costo y fácil de aplicar en sitios que cuentan como mínimo con un microscopio. ⁽²⁷⁾

Procedimiento:

Antes de la toma de muestra tener en cuenta que la lesión este limpia, lavar la lesión ulcerada (área necrótica, muerta) del paciente con agua y jabón. Elegir el borde de la lesión ulcerada. Desinfectar con alcohol al 70%. Presionar con firmeza los bordes de la lesión hasta que palidezca; en el borde interno, hacer una pequeña incisión con la hoja del bisturí estéril tratando de levantar la piel; secar la sangre con gasa y raspar el tejido.

- Con el material obtenido en la hoja de bisturí, hacer el frotis en el portaobjetos, procurando que este sea delgado y evitando pasar dos veces por el mismo sitio.
- Rotular el portaobjetos y dejar secar al medio ambiente.
- Fijar las láminas que contienen el frotis o impronta-frotis cubriéndolas con metanol absoluto durante 3 minutos o hasta que se haya evaporado.
- Cubrir la lámina con coloración Giemsa diluida 1 en 10 a partir de una solución stock por 30 minutos.
- Descartar el colorante y lavar ligeramente con agua corriente
- Dejar secar la lámina a temperatura ambiente durante 10 minutos
- Observar la lámina a un aumento de 100x, adicionar una gota de aceite de inmersión y examinar el frotis hasta que se visualicen los parásitos

Resultado:

La observación de formas amastigotes de Leishmania en los frotis indica un resultado positivo. El resultado debe informarse: leishmaniasis (+): observación de amastigotes de Leishmania. ⁽²⁷⁾

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 73 - 141	

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Fijar las láminas que contienen el frotis con metanol absoluto o alcohol de 90° durante 3 minutos o hasta que se haya evaporado.	Tec. laboratorio
4	Cubrir la lámina con coloración Giemsa diluida 1 en 10 a partir de una solución stock por 30 minutos. Eliminar el colorante, lavar con agua corriente y dejar secar a temperatura ambiente.	Tec. laboratorio
5	Hacer lectura de los frotis a 100 X	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: La observación de formas amastigotes de Leishmania en los frotis indica un resultado positivo. El resultado debe informarse: leishmaniasis (+): observación de amastigotes de Leishmania.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

14. GOTA GRUESA (IDENTIFICACIÓN DE MALARIA)

Fundamento:

Este examen se basa en la identificación del parásito Plasmodium causante de la malaria en una muestra de gota gruesa y extendido sanguíneo.

La gota gruesa es la extensión de una gota de sangre aproximadamente de 1cm de diámetro mediante la cual se puede concentrar la densidad del parásito permitiendo un examen rápido. Con la gota gruesa se puede detectar la presencia del plasmodio, su especie y la densidad parasitaria

El frotis sanguíneo es la extensión de una gota de sangre de tal manera que se pueden observar al microscopio, tanto los eritrocitos como los parásitos en un sólo plano. Con el frotis sanguíneo se logra diferenciar claramente la especie de plasmodio

Es recomendable que la recolección de sangre se debe hacer en el momento en que se presenta la fiebre (en esta etapa los parásitos son más numerosos) y antes que se

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 74 - 141	

administren medicamentos antimalaricos. Para el pronóstico y el tratamiento de la enfermedad es importante que se identifique la especie en el laboratorio. ⁽¹⁷⁾

Procedimiento:

- Una vez obtenida la muestra realizar la gota gruesa utilizando uno de los ángulos de una segunda lamina esparcir rápidamente la gota de sangre y extenderla uniformemente en forma concéntrica en una sola dirección de adentro hacia fuera o viceversa hasta formar una gota gruesa de 1 centímetro de diámetro; teniendo en cuenta que la sangre no debe ser excesivamente revuelta, es suficiente con 3 a 6 movimientos.
- El frotis sanguíneo se realiza utilizando la misma lámina auxiliar, poniéndola en contacto con la superficie de la lámina que contiene la gota central y hacerla correr firmemente a lo largo de su borde en un ángulo de 45 grados.
- Dejar que sequen las láminas en forma horizontal y fijar el frotis con metanol.
- Colorear la gota gruesa y extendido con Giemsa filtrado diluido en agua destilada en proporción (1:1)
- Lavar el exceso de colorante con agua corriente y esperar que sequen a medio ambiente y observar al microscopio con objetivo de inmersión (100X) la gota gruesa buscando los diferentes estadios del parásito Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum o Plasmodium malariae.
- Observar 100 campos microscópicos óptimos siguiendo un determinado patrón y moviendo el micrométrico con la finalidad de observar el mayor número de capas sanguíneas.
- Una lámina puede declararse como negativa solo después de observar 100 campos microscópicos sin haber encontrado parásitos.
- Anotar el número de parásitos observados y la especie a la que pertenecen
- Para una mejor visualización de las características del parásito observar el frotis (300) campos microscópicos para determinar si la muestra de sangre es positiva o negativa para malaria, pero si el diagnóstico es dudoso examinar 400 a 500 campos microscópicos.

Resultados:

Cuando la lámina es positiva a malaria se debe informar de la siguiente manera:

+/2 De 40 a 60 parásitos en 100 campos

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 75 - 141	

- + Un parásito por campo en 100 campos
- ++ De 2 a 20 parásitos por campo en 100 campos
- +++ De 21 a 200 parásitos por campo en 100 campos
- ++++ Más de 200 parásitos por campo en 100 campos

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Homogenizar la muestra, a 1 cm del borde de una lámina colocar 1 gota de sangre utilizando el ángulo de una segunda lámina extender uniformemente la gota de sangre hasta 1 cm de diámetro	Tec. laboratorio
4	A 1 cm de la gota de sangre de la lámina anterior colocar 5 ul. de sangre y realizar el frotis de 3 cm. de largo con ayuda de una lámina auxiliar a un ángulo de 45°	Tec. laboratorio
5	Dejar secar horizontalmente a temperatura ambiente y colorear por 10 minutos con giemsa diluido 1:1, descartar el exceso del colorante y lavar con agua corriente. Dejar secar con la gota gruesa hacia abajo.	Tec. laboratorio
6	Realizar la lectura al microscopio con objetivo de inmersión en 100 campos microscópicos	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Anotar los resultados en las hojas diarias de trabajo: Anotar el número de parásitos observados y la especie. Los resultados se informara por cruces: + /2 de 40 a 60 parásitos en 100 campos + 1 parasito por campo en 100 campos ++ 2 – 20 parásitos por campo en 100 campos +++ 21 – 200 parásitos por campo en 100 campos ++++ más de 200 parásitos por campo en 100 campos	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT.	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 76 - 141	

15. UROCULTIVO

Fundamento:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes tanto en la comunidad como en el ámbito hospitalario. Por ello es necesario tener procesos de trabajo bien definidos. La infección del tracto urinario (ITU) se define como la presencia y multiplicación de microorganismos en la vía urinaria con invasión de los tejidos. El propósito del análisis microbiológico de una muestra de orina es determinar si existe una infección y, si existe, identificar el microorganismo que la produce. Para determinar si existe infección debemos hacer un recuento del número de microorganismos que hay por ml. de orina. La muestra de orina debe ser recolectada en máximas medidas de asepsia para evitar contaminación.

La incidencia de ITU en mujeres es claramente superior a la observada en hombres: se calcula que entre el 50 y el 60% de las mujeres adultas tendrá al menos un episodio de ITU en su vida. La incidencia de ITU en hombres jóvenes es muy baja aumentando a partir de los 50 años cuando las patologías prostáticas y las instrumentaciones de la vía urinaria, que son reconocidos factores de riesgo, se tornan más frecuentes. ⁽²⁸⁾

Recomendaciones generales:

- Reducir la solicitud de Urocultivos innecesarios, insistir en una recolección adecuada de la muestra, estableciendo filtros como revisar el sedimento urinario y sembrar muestras cuando se observen mayor de 10 leucocitos/campo (excepto embarazadas, neutrónicos y procedimientos urológicos).
- La coloración de Gram orienta el diagnóstico y apoya la detección de contaminaciones.
- La higiene personal previa a la obtención de la orina es necesaria hacerla en el momento de tomar las muestras y no antes.
- Preferentemente se debe obtener la primera orina de la mañana (ya que se trata de una muestra más concentrada). De no ser posible, el paciente debe abstenerse de orinar durante 4 horas previas al examen.
- No forzar la ingesta de líquidos, ya que con ello se diluye la orina, alterando el recuento bacteriano. El volumen mínimo de orina debe ser de 10 ml.
- Recoger la muestra a la mitad de la micción. Eliminar la primera parte de la micción y desecharla. La orina que emite a continuación se recoge directamente en el recipiente. Tapar el recipiente y terminar de orinar libremente.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 77 - 141	

- El paciente no debe de estar recibiendo tratamiento antimicrobiano. De estar recibiendo, indicar la suspensión de 3 a 5 días antes de hacerse el urocultivo.

Cuando se debería realizar un urocultivo

- No se requiere realizar urocultivo de rutina en mujeres con cistitis 1° episodio, sin factores de riesgo y adquiridas en la comunidad
- Se recomienda realizar urocultivo en: sospecha de pielonefritis aguda, paciente con signos y síntomas que no resuelven con el tratamiento empírico, paciente que haya recibido tratamiento antibiótico en los últimos 6 meses, con al menos un episodio previo de cistitis y toda UTI en varones. ⁽²⁹⁾

Procedimiento:

(1er día)

- La muestra una vez recolectada debe procesarse dentro de las 2 horas a temperatura ambiente o refrigerarse hasta su proceso, no más de 4 horas.
- Agitar suavemente el frasco que contiene la orina y colocar una gota, con el Asa estéril y frío en la lámina portaobjeto dejar secar, colorear con el método Gram.
- Proceder a la observación microscópica registrando lo observado (presencia de gérmenes, tipo de gérmenes predominante, características tintoriales, etc.).
- Un frotis teñido con Gram de una gota sin centrifugar continúa siendo el método más adecuado para la valoración cuantitativa inicial del grado de bacteriuria existente. La presencia de una o más bacterias por Campo de Inmersión en Aceite, se correlaciona (aprox. en un 85%) con unos cultivos cuantitativos de: $> 10^5$ ufc/ml.

Siembra

- Tomar la orina sin centrifugar, con el asa de siembra calibrada, es decir, que cada asada suministre 0,01 o 0,001 mL de orina.
- Sembrar la orina por dispersión agotamiento con un asa de siembra calibrada, sobre una placa de agar sangre, otra sobre una placa de agar de Mac Conkey y agar CLED.
- Rotular e incubar a 37 °C por 24 o 48 horas

Lectura e interpretación

(2do día)

- Si a las 24 horas de incubación es negativo. Reincubar las placas 24 horas más.
- Detallar las características de las colonias en el agar Mac Conkey, CLED y agar

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 78 - 141	

sangre. Seleccionar colonias del agar Mac Conkey y replicar (resembrar) en los medios de diferenciación bioquímica (TSI, LIA, Citrato, Indol, úrea, etc.) y en placa con cromoagar.

- Si se sospecha de colonias de Pseudomonas realizar prueba de oxidasa
- Las interpretaciones se harán de acuerdo con las reacciones bioquímicas de las bacterias.
- Realizar antibiograma e identificación con el sistema automatizado utilizando placas según el microorganismo sospechoso.
- Si por algún motivo ajeno al servicio no se disponga de material para la realización de antibiograma automatizado se tendrá otra opción de realizar antibiograma en Agar Müller Hilton el cual debe incluir los Sensidiscos propios según el caso.
- Incubar 18 a 24 horas – 37°C las placas del procedimiento anterior.
- Dar lectura y si fuera el caso, realizar otros procedimientos para obtener datos epidemiológicos o de resistencia bacteriana.
- Registrar resultados reportando si hubiera alguna observación en comentarios.

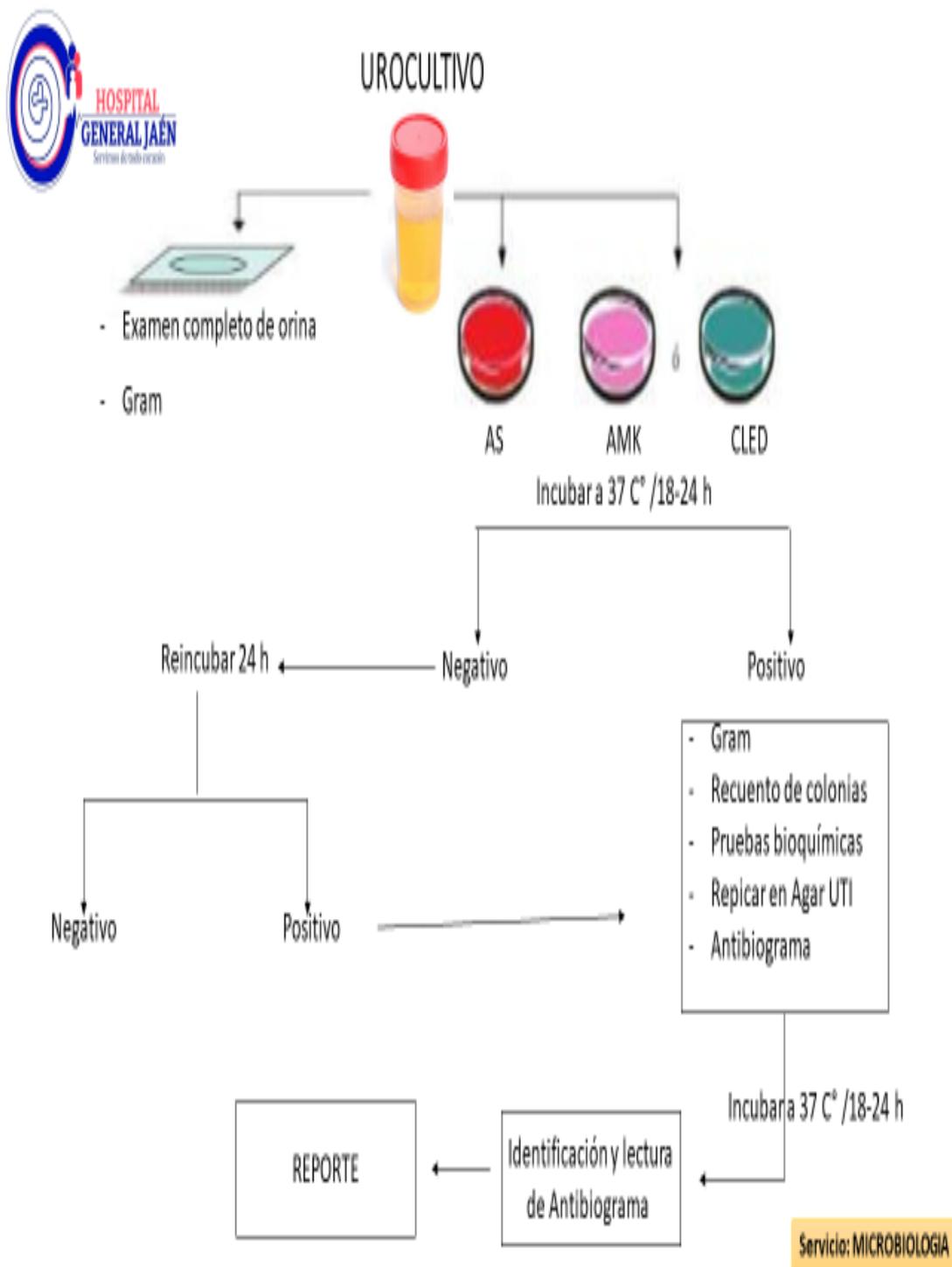
Informe de resultados

- Para conocer el número de microorganismos en un 1 mL de orina, se cuentan las colonias y el resultado se multiplica por 100 si se usó asa de 0,01 mL o por 1 000 si se usó asa de 0,001 mL.
- El resultado será el número de bacterias por ml de orina, considerándose: Cuando el número de colonias sobrepasa el número de 100 000 bacterias por mL de orina, al informar no interesa precisar el número exacto de bacterias, solo debe informarse "más de 100 000 bacterias por mL de orina"
- Si no hay colonias bacterianas reportar 0 UFC/ml en 48 horas, o Cultivo negativo a las 48 horas de incubación.
- EN EL RECuento DE COLONIAS: recuentos menores o iguales a 10.000UFC/ml no son significativos excepto en muestras recogidas por punción suprapúbica, o cuando el aislamiento de un germen es repetitivo y único.
- Recuentos de más de 100.000 UFC/ml se deben reportar así se encuentren dos tipos de colonias.
- La presencia de dos o más colonias diferentes en poca cantidad son causa de mala recolección de la muestra o incorrecta manipulación en el Laboratorio. ⁽³⁰⁾

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 79 - 141	

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de parasitología	Tec. laboratorio
3	Anotar en el cuaderno de registro de Urocultivos los datos completos del paciente y en la muestra el código correspondiente.	Tec. laboratorio
4	Homogenizar la muestra colocar una gota de orina en una lámina portaobjeto y dejar secar	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Realizar la coloración de Gram	Tec. laboratorio
6	Hacer lectura de la coloración Gram con objetivo de inmersión anotando lo observado: presencia de gérmenes, tipo de gérmenes predominante, características tintoriales, etc.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Homogenizando suavemente la muestra de orina y realizar el sembrado por dispersión agotamiento con asa de 0.1 ul estéril en placas de agar sangre, agar Mac Conkey y agar CLED previamente rotuladas con el código correspondiente al cuaderno de Urocultivos.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Incubar 24 horas a 37°C en anaerobiosis	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Realizar lectura de las placas, si no hubiera crecimiento Reincubar por 24 horas más.	Tecnólogo médico o Biólogo
10	En las placas que se evidencia crecimiento, realizar el recuento de colonias	
11	Detallar las características de las colonias realizar pruebas como coloración Gram, catalasa, oxidasa y replicar en agar cromogénico y medios de diferenciación bioquímica	
12	Replicar en agar cromogénico y medios de diferenciación bioquímica. Incubar 24 horas a 37°C en anaerobiosis	Tecnólogo médico o Biólogo
13	Si se observa crecimiento bacteriano de un solo tipo de colonias proceder a la realización del antibiograma según metodología disponible en el laboratorio. Si no fuera el caso esperar 24 horas el crecimiento en cromoagar para la realización del antibiograma	Tecnólogo médico o Biólogo
14	Realizar lectura de antibiograma según la metodología empleada del mismo. Basándose en la norma CLSI	Tecnólogo médico o Biólogo
15	Realizar pruebas complementarias para la identificación de presencia de enzimas de resistencia bacteriana	Tecnólogo médico o Biólogo
16	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo del servicio de atención si es emergencia u hospitalización: Durante la primera hora de llegar la muestra al servicio, consulta externa: 24 horas.	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

FLUJOGRAMA DEL PROCESOS DE UROCULTIVO.





ELIJIENDO AL ANTIBIOTICO CORRECTO

HOSPITALIZACION

	N	Penicilinas					Cefalosporinas					Otros B Lactámicos			Aminoglicosidos y Quinolonas				Otros Antibioticos								
		Penicilina	Oxacilina	Ampicilina	Ampicilina/Sulbactam	Piperacili/Tazobactam	Cefazolina	Cefoxitina	Ceftriaxona	Cefazidima	Cefepime	Ceftarolina	Imipenem	Meropenem	Aztreonam	Amikacina	Gentamicina	Tobramicina	Ciprofloxacino	Levofloxacino	Trimetropim/Sufameto	Tetraciclina	Teicoplanina	Coloistina	Linezolid	Capomicina	Vancomicina
Gram Negativos	6526																										
Acinetobacter baumannii / haemolyticus	736	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	7%	13%	NR	26%	26%	24%	14%	16%	19%	NR	19%	-	NR	NR	NR	
Citrobacter freundii	67	NR	NR	12%	-	86%	6%	16%	52%	48%	78%	-	100%	99%	58%	96%	75%	75%	52%	62%	51%	NR	-	-	NR	NR	NR
Enterobacter cloacae	335	NR	NR	8%	8%	76%	8%	5%	49%	47%	64%	-	96%	91%	50%	92%	69%	66%	55%	80%	58%	NR	82%	-	NR	NR	NR
Escherichia coli	1565	NR	NR	8%	17%	92%	26%	88%	27%	27%	29%	-	94%	97%	28%	97%	53%	47%	21%	23%	28%	NR	68%	99%	NR	NR	NR
Klebsiella pneumoniae	1060	NR	NR	0%	28%	84%	28%	91%	28%	30%	30%	-	95%	92%	30%	95%	54%	43%	38%	67%	34%	NR	69%	100%	NR	NR	NR
Morganella morganii	101	NR	NR	0%	-	93%	3%	85%	79%	57%	87%	-	75%	94%	82%	93%	74%	72%	46%	68%	39%	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Proteus mirabilis	162	NR	NR	14%	64%	99%	25%	89%	38%	34%	41%	-	87%	92%	39%	88%	37%	39%	19%	45%	24%	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Pseudomona aeruginosa	1651	NR	NR	NR	NR	54%	NR	NR	NR	52%	48%	NR	39%	36%	40%	62%	52%	59%	52%	53%	NR	NR	NR	97%	NR	NR	NR
Salmonella enterica	39	NR	NR	72%	-	100%	NR	NR	90%	87%	92%	-	100%	100%	83%	100%	72%	74%	97%	97%	82%	NR	-	-	NR	NR	NR
Serratia marcescent	126	NR	NR	5%	8%	88%	14%	20%	70%	65%	80%	-	99%	86%	72%	NR	79%	NR	73%	94%	76%	NR	86%	NR	NR	NR	NR
Stenotrophomona maltophilia	213	NR	NR	NR	NR	-	NR	NR	NR	35%	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	93%	95%	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Other SPACE	165	NR	NR	8%	21%	87%	18%	55%	51%	51%	70%	-	92%	93%	60%	89%	74%	66%	57%	58%	63%	NR	81%	72%	NR	NR	NR
Other Non-fermentative	309	NR	NR	NR	NR	80%	NR	NR	NR	59%	65%	NR	68%	76%	44%	70%	67%	71%	62%	78%	NR	NR	NR	-	NR	NR	NR
Gram Positivos	4329																										
Enterococcus faecium	178	11%	NR	10%	18%	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	8%	17%	NR	NR	NR	NR	5%	19%	30%	55%	-	NR	99%	56%	49%
Enterococcus faecalis	881	55%	NR	97%	97%	-	NR	NR	NR	NR	NR	-	73%	82%	NR	NR	NR	NR	44%	54%	47%	27%	-	NR	59%	99%	99%
Staphylococcus aureus	1289	3%	28%	3%	24%	-	26%	-	22%	NR	-	35%	NR	NR	NR	78%	25%	79%	23%	25%	82%	89%	93%	NR	100%	59%	100%
Staphylococcus coagulasa negativa	2419	2%	15%	2%	10%	-	11%	-	10%	NR	-	81%	NR	NR	NR	96%	20%	67%	71%	26%	43%	78%	38%	NR	100%	59%	100%
Streptococcus B hemolyticus	112	100%	NR	100%	95%	-	NR	NR	100%	NR	-	-	-	-	NR	NR	NR	NR	92%	100%	38%	-	NR	100%	100%	100%	

JCAA - 17/Feb/2021

FIRST TRAINING SALUD



	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 83 - 141	

16. CULTIVO DE SECRECIONES Y LIQUIDOS CORPORALES

Fundamento:

El estudio de secreciones y líquidos corporales requiere un proceso inmediato, debido entre otras razones a la urgencia por la cual fue enviada al laboratorio y al deterioro de las células presentes las cuales deben ser contadas. La evaluación de todos los líquidos corporales, tienen PRIORIDAD sobre cualquier otro examen en microbiología.

Como toda muestra potencialmente peligrosa, el protocolo de trabajo de los líquidos y secreciones corporales exige el cumplimiento de las medidas de bioseguridad. ⁽²⁹⁾

Recomendaciones generales

- Para el cultivo de líquidos se debe coleccionar la muestra en 3 envases enumerados.
 - El 1er tubo: Para estudios bioquímicos e inmunológicos
 - El 2do tubo: Para cultivo microbiológico
 - El 3er tubo: Para recuento celular y fórmula diferencial
- El volumen mínimo para el estudio de bacterias es de 2 ml, para hongos y micobacterias es necesario volumen superior a 10 ml
- Es necesario señalar las investigaciones solicitadas (germenes comunes, micobacterias, hongos)
- Evitar la refrigeración de las muestras ya que puede afectar la viabilidad de los microorganismos a estudiar.
- Muestras aceptables para anaerobios son las muestras de cavidades cerradas sin flora residente: Líquidos corporales (peritoneal, pleural, articular, LCR, orina por punción suprapúbica, absesos, biopsias, tejidos, bilis, aspirado directo de pulmón, sangre, médula ósea, aspirado endometrial, aspirado de senos maxilares.
- Muestras inaceptables para anaerobios : orina emitida, semen, secreciones vaginales o cervicales, secreción faríngea, esputo, lavado broncoalveolar, contenido gástrico, intestino delgado, heces, hisopados rectales, fístulas colcutáneas y escaras superficiales.

Procedimiento

Cultivo de Líquidos Corporales

Siembra (1er Día)

- Colocar la muestra en un tubo y centrifugar a 3800 rpm/20 min.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 84 - 141	

- Retirar el sobrenadante y sembrarlo en frascos de hemocultivo (excepto en LCR)
- Las placas a sembrar deberán estar a temperatura ambiente y rotuladas
- Con el sedimento sembrar en Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Mac Conkey, Agar Saboraud y Agar Manitol Salado.
- Colocar 1 gota del sedimento en una lamina portaobjeto y dejar secar, fijar con una gota de metanol y colorear con Gram.
- Dos gotas del sedimento de LCR colocar en un portaobjeto y agregar una gota de tinta china cubrir con laminilla y observar al microscopio.

Incubacion

- Incubar las placas de 35 – 37 °C/ 24 horas. Las placas de Agar Sangre y Agar Chocolate incubar en jarra de anaerobiosis con CO₂ al 5% con el medio de cultivo hacia arriba.

Lectura e interpretacion (2do Dia)

- Si hubiera crecimiento realizar el reconocimiento de colonias si no hubiera incubar por 24 horas mas y en el caso del Agar Saboraud hasta las 72 horas.
- Detallar las características de las colonias y replicar (resembrar) en los medios de diferenciación bioquímica (TSI, LIA, Citrato, Indol, úrea, etc.) y en placa con Cromoagar
- Realizar las Pruebas de Identificación antibiograma, según disponibilidad de insumos y según germen aislado
- Registrar resultados y reportar

Cultivo de Secreciones

- Las muestras pueden ser: secrecion de heridas, bronquial, farigea, esputo, semen, etc.
- En Secrecion Vaginal realizar un examen directo para investigar *T. vaginalis* y el test de aminas.
- Con el extendido en lamina portaobjeto realizar la tincion Gram

Siembra

- Las placas a sembrar deberán estar a temperatura ambiente y rotuladas
- Las muestras obtenidas con hisopos sembrar frotando y rotando el hisopo en la superficie de los medios de cultivo empezando con el Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Mac Conkey, Agar Saboraud y Agar Manitol Salado. Para Secrecion Prostatica o cuando el diagnostico indique Gonorrea sembrar directamente en agar Tayer Martir.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 85 - 141	

Incubacion

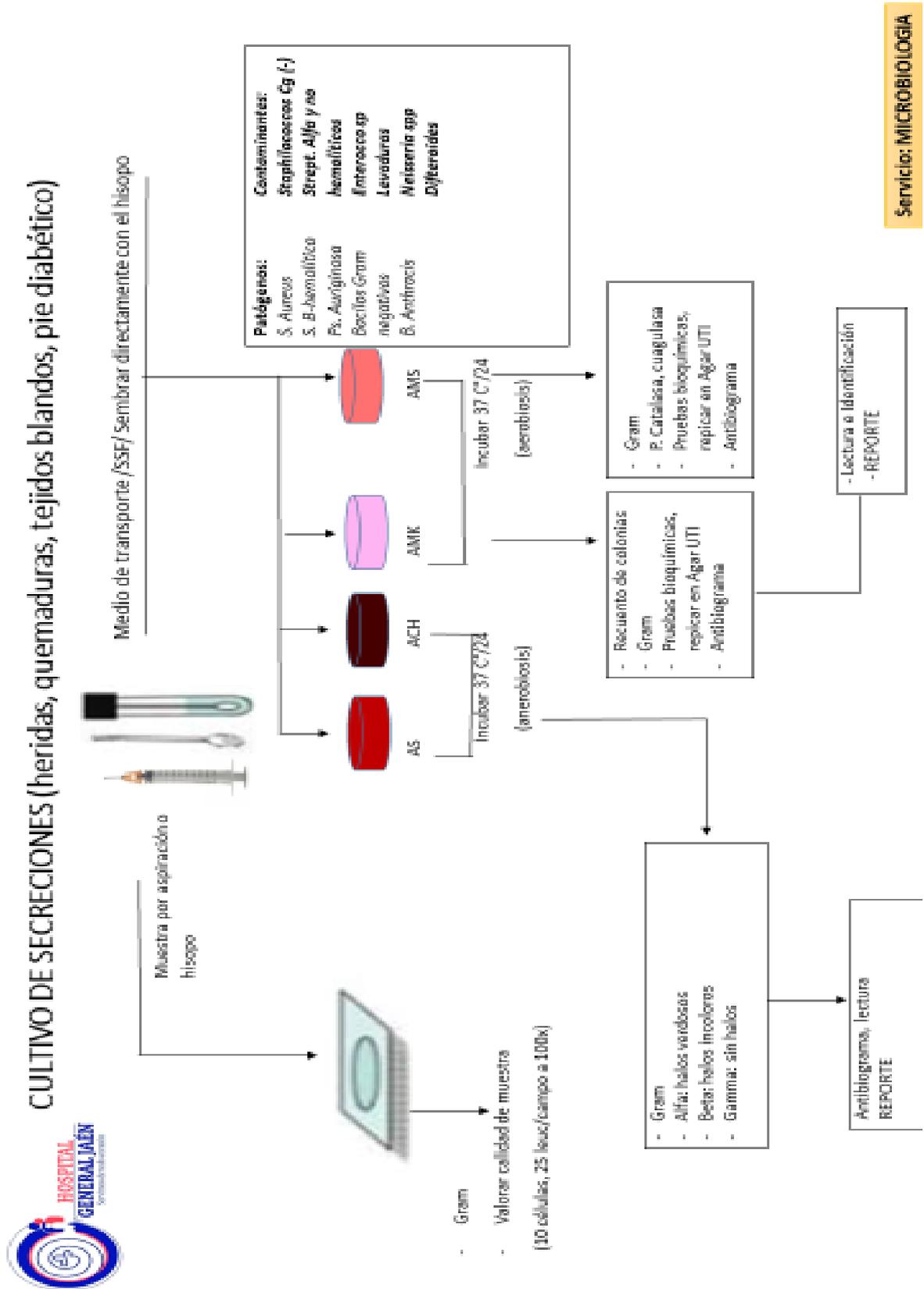
- Incubar las placas de 35 – 37 °C/ 24 horas. Las placas de Agar Sangre y Agar Chocolate, agar Tayer Martir incubar en jarra de anaerobiosis con CO2 al 5% con el medio de cultivo hacia arriba.

Lectura e interpretacion de resultados

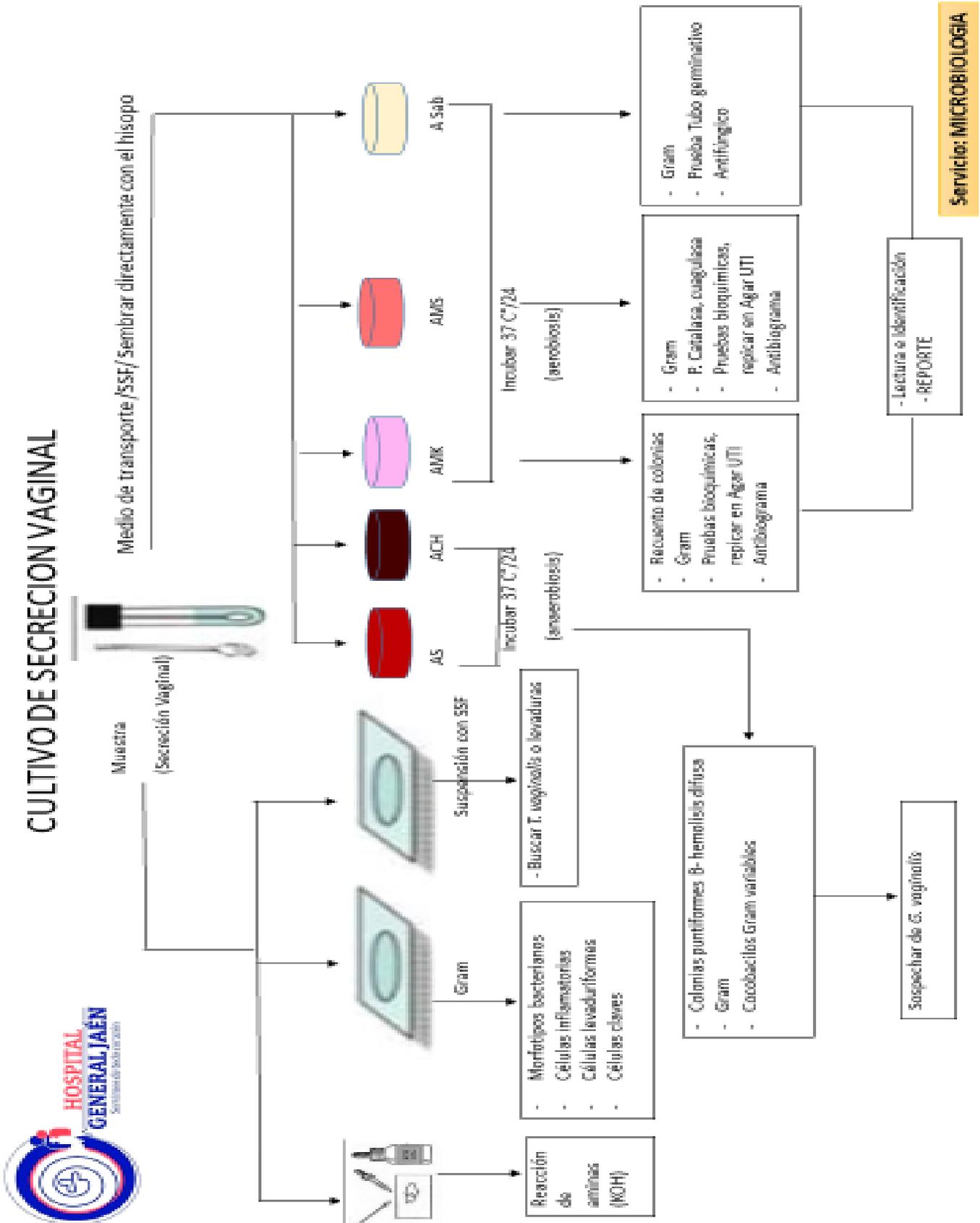
- Si hubiera crecimiento realizar el reconocimiento de colonias si no hubiera incubar por 24 horas mas y en el caso del Agar Saboraud hasta las 72 horas.
- Detallar las características de las colonias y replicar (resembrar) en los medios de diferenciación bioquímica (TSI, LIA, Citrato, Indol, úrea, etc.) y en placa con Cromoagar
- Realizar las Pruebas de Identificación bacteriana y antibiograma según el germen aislado y según disponibilidad de insumos sea por método de Kirby - Bauer o micro dilución por automatización.
- Las interpretaciones se harán de acuerdo con las reacciones bioquímicas y las pruebas de Identificación de las bacterias.
- Registrar resultados y reportar.⁽³⁰⁾

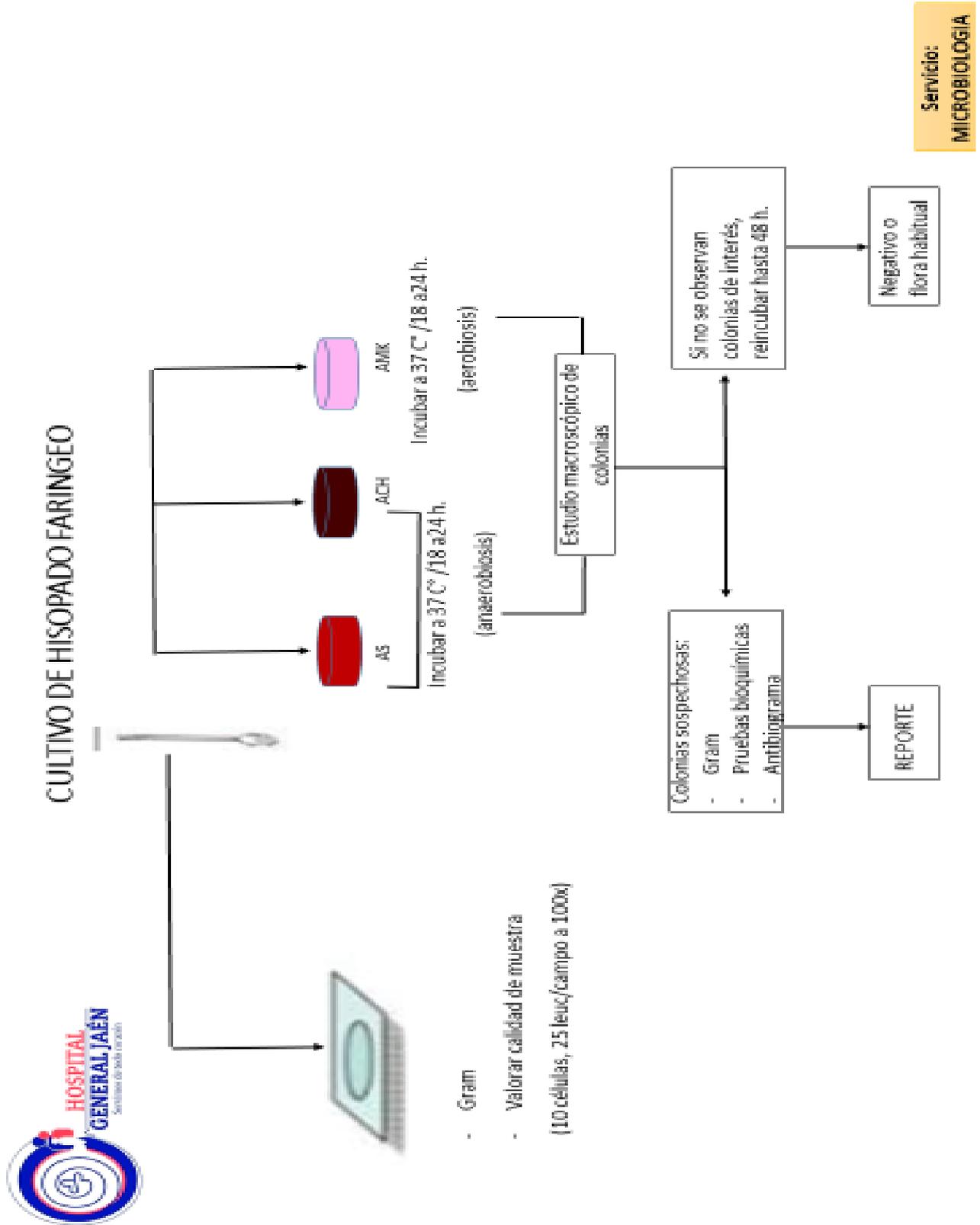
N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de microbiología	Tec. laboratorio
3	Anotar en el cuaderno de registro secreciones o líquidos los datos completos del paciente y en la muestra el código correspondiente.	Tec. laboratorio
4	Homogenizando suavemente la muestra realizar el sembrado por dispersión agotamiento con asa de 0.10 ul estéril en placas de agar sangre, chocolate, agar Mac Conkey y agar Saboraud previamente rotuladas con el código correspondiente	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Incubar 24 horas a 37°C en anaerobiosis las placas de agar sangre, chocolate y Tayer Martir si este lo amerita. Las placas de agar Saboraud, agar Mac Conkey y manitol salado incubar 24 horas a 37° C en aerobiosis.	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Realizar lectura de las placas, si no hubiera crecimiento Reincubar por 24 horas más y las placas de Saboraud hasta 72 horas.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Detallar las características de las colonias realizar pruebas como coloración Gram, catalasa, oxidasa	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Replicar en agar cromogénico y medios de diferenciación bioquímica. Incubar 24 horas a 37°C en aerobiosis	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Si se observa crecimiento bacteriano de un solo tipo de colonias proceder a la realización del antibiograma según metodología disponible en el laboratorio. Si no fuera el caso esperar 24 horas el crecimiento en cromoagar para la realización del antibiograma	Tecnólogo médico o Biólogo
10	Realizar lectura de antibiograma según la metodología empleada del mismo. Basándose en la norma CLSI	Tecnólogo médico o Biólogo
11	Realizar pruebas complementarias para la identificación de presencia de enzimas de resistencia bacteriana	Tecnólogo médico o Biólogo
12	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT. El mismo día de terminar con el procedimiento del cultivo	Tecnólogo médico o Biólogo
13	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo de la hora del sembrado de la muestra, del crecimiento bacteriano. A partir del 4to día sembrada la muestra	Tec. laboratorio
Fin del procedimiento		

FLUJOGRAMA DE CULTIVO DE SECRECIONES Y LIQUIDOS CORPORALES

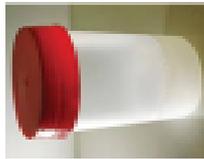


CULTIVO DE SECRECION VAGINAL





CULTIVO DE SEMEN



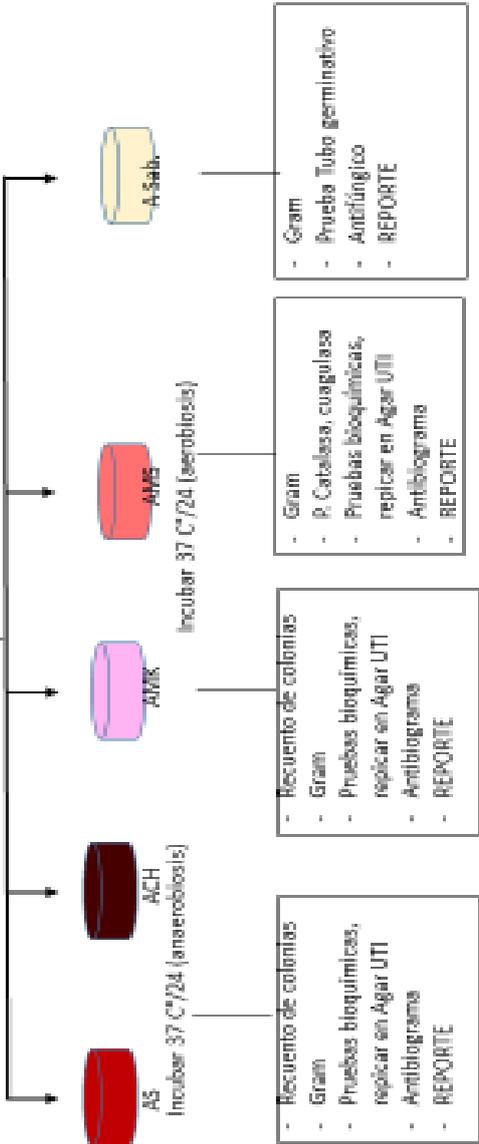
Patógenos:
 Enterobacterias
 S. Aureus
 Ps. Aeruginosa
 Levdolurus
 Neisseria spp

- Abstenerse sexual por 3 días.
- Cerrar y limpiar de genitales con jabón y secarlo.
- Recolectar la muestra solo por masturbación y a partir la hora de recolección
- Llevar la muestra al laboratorio antes de 1 hora.

- EXAMEN MACROSCOPICO**
- Color
 - Olor
 - Volumen
 - PH
 - Liquefacción
 - Viscosidad

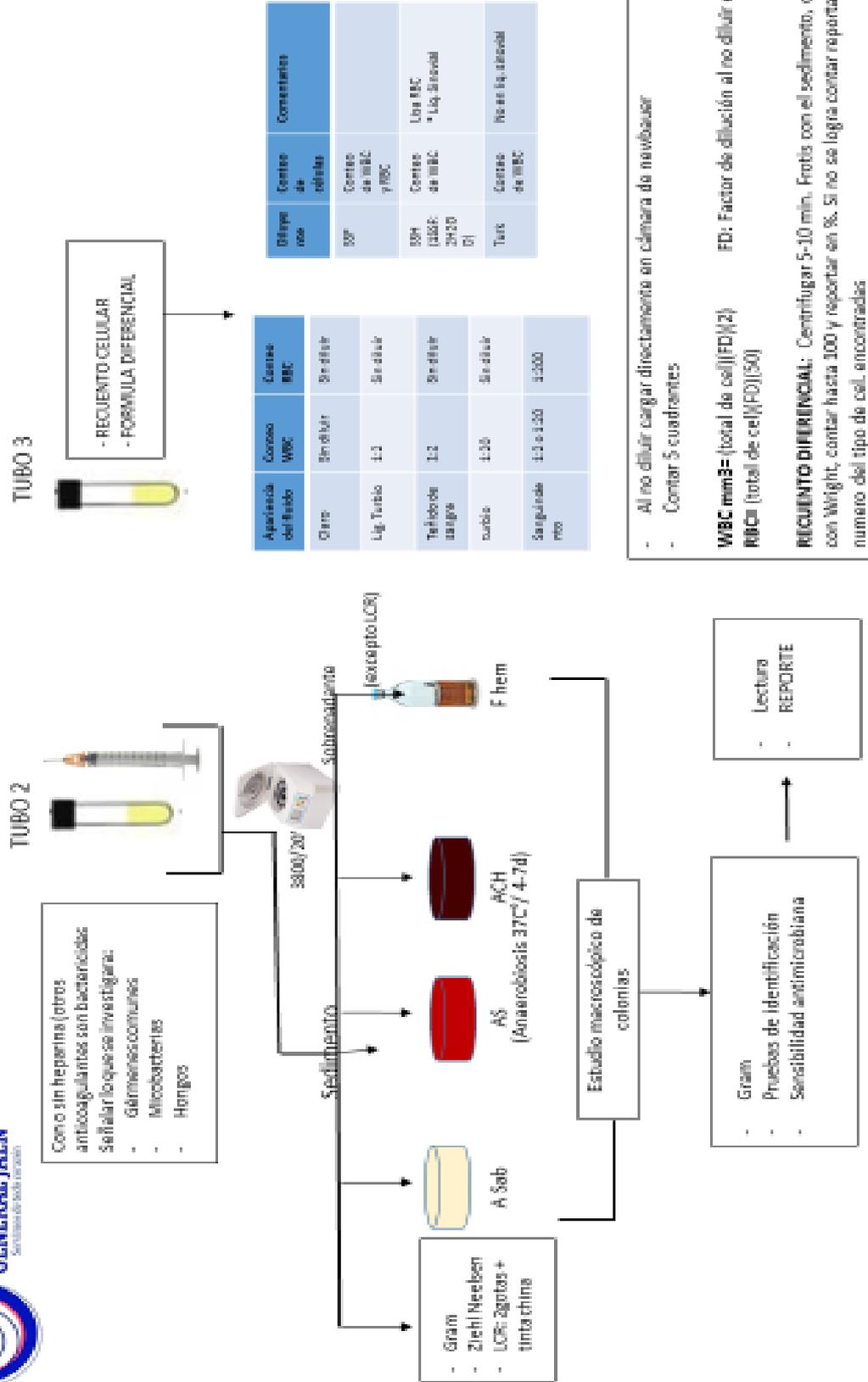
- EXAMEN MICROSCOPICO**
- Recuento de espermatozoides
 - Mortalidad
 - Morfología
 - Gram
 - Examen directo con SSF

CULTIVO



Servicio: MICROBIOLOGIA

CULTIVO DE LIQUIDOS



	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 92 - 141	

17. HEMOCULTIVOS

Fundamento:

Es la prueba más útil y más frecuentemente usada para el diagnóstico de las bacteriemias y fungemias tienen una metodología diagnóstica muy similar, por lo que se describirán de forma conjunta. Ambas se producen cuando los microorganismos invaden el torrente sanguíneo y se multiplican a un ritmo que supera la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlos. La probabilidad de que el resultado de los hemocultivos positivos represente una bacteriemia verdadera aumenta cuando la muestra se obtiene adecuadamente. ⁽²⁹⁾

Quien necesita un hemocultivo

- Pacientes con neutropenia febril
- Fiebre de origen desconocido
- Sospecha de infección endovascular, incluyendo bacteriemia asociada al catéter, de endocarditis infecciosa, de sepsis, colangitis, absceso piogénico hepático, neumonía complicada, infección de piel y tejidos blandos, meningitis, pielonefritis, artritis séptica, leucocitosis no explicada.

Recomendaciones

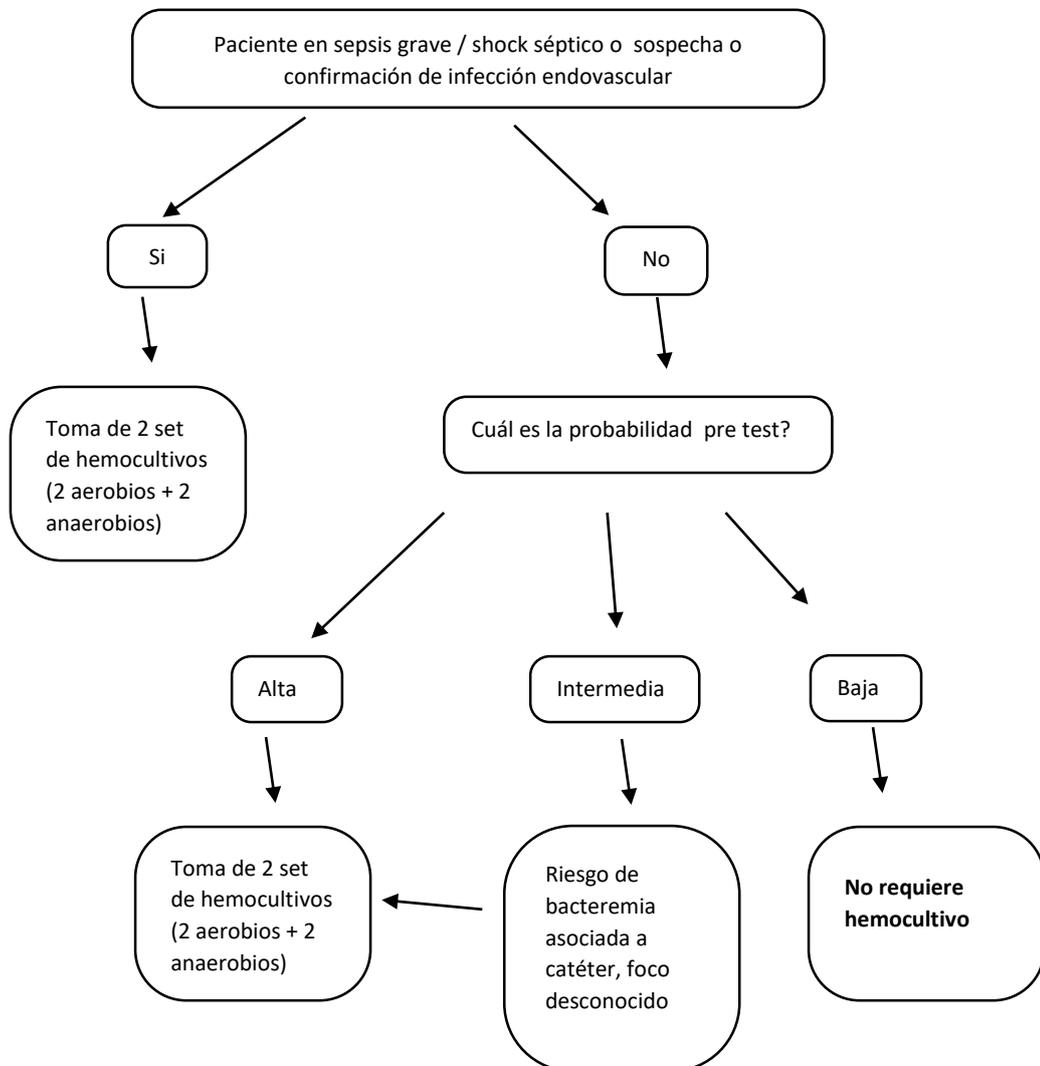
- Deben tomarse de preferencia antes de la primera dosis de antibiótico. De no ser posible, deben tomarse justo antes de la siguiente dosis (aproximadamente 30 min)
- Se debería de tomar en adultos 2 set de hemocultivos (2 aerobios y 2 anaerobios)
- Usar clorhexidina alcohólica al 2% para limpieza de la piel, si hay hipersensibilidad usar tintura de yodo o iodopovidona al 10%
- En niños menores de 2 meses utilizar clorhexidina alcohólica al 0.5% o alcohol al 70%
- Se recomienda el uso de campo estéril en pacientes y tomadores de muestras, limpiar solo con alcohol de 70% la tapa de la botella y permitir su evaporación antes de inyectar la muestra.
- La muestra de sangre para hemocultivo debe extraerse de una vena, utilizándose generalmente las del antebrazo. La utilización de sangre arterial no ha demostrado ventajas sobre la venosa (únicamente se extraerá de arteria cuando sea imposible hacerlo de una vena).

- La extracción no debe realizarse a través de catéteres intravenosos o intraarteriales, cada muestra de sangre se obtendrá de lugares de venopunción diferentes, no servirá la sangre extraída del cordón umbilical.
- Identificar los frascos con nombre completo del paciente, fecha, número de historia clínica, hora de toma y número de secuencia.
- Enviar los hemocultivos rápidamente al Laboratorio de Microbiología. Transporte de las botellas a temperatura ambiente antes de 15 min no más de 2 horas. Nunca deben refrigerarse.
- No se requiere cambiar de aguja / jeringa para inyectar la sangre en la botella. Favorece los accidentes y no disminuye la contaminación.
- El volumen de sangre es factor crítico, pues la concentración de microorganismo es baja. Para adultos 10 ml por botella es recomendable
- Las muestra se toma con jeringa de 20 ml para adultos y se llenan 2 botellas con 10 ml en cada una, si se procesa anaerobios esta se llenara primero
- Si hay catéter, realizar la toma de 1 set (2 botellas) por catéter más 1 set (2 botellas) periféricos.
- En la población pediátrica el volumen de sangre por botella dependerá del peso y la edad y solo se toman botellas aeróbicas pediátricas. ⁽²⁹⁾

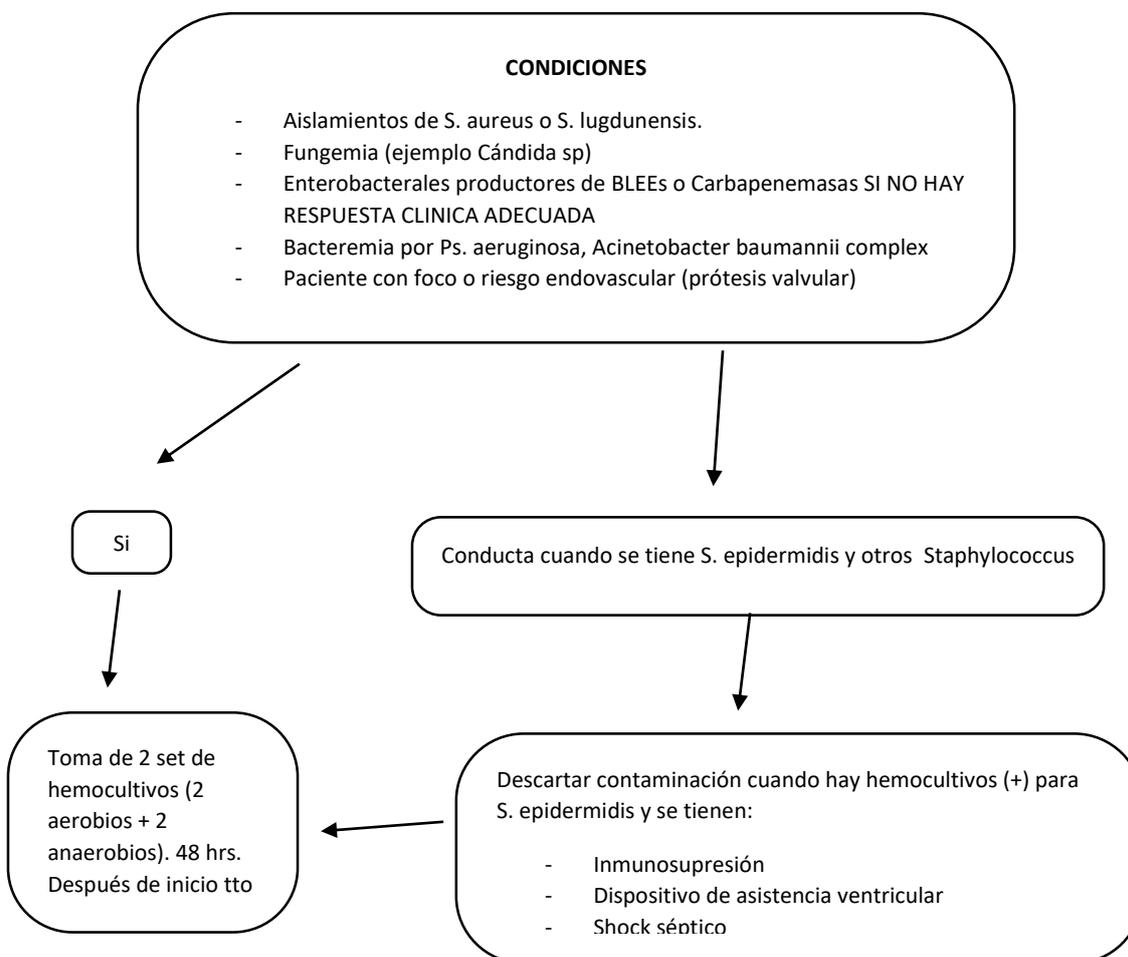
Población	Edad	Sitio	Volumen minino	Botellas
Neonatos	0 - 28 días	Vena periférica	<8 kg: 1 ml	Una botella pediátrica aeróbica
Niños	1 – 3 meses	Vena periférica	<8 kg: 1 ml	Una botella pediátrica aeróbica
	3 – 36 meses	Vena periférica	<8 kg: 1 ml 8– 13 kg: 3 ml 13-27 kg: 5 ml	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0.5 – 4 ml. Botella aeróbica de adulto si el volumen es mayor de 4 ml
	4 – 11 años	Vena periférica	8– 13 kg: 3 ml 13-27 kg: 5 ml 27-40 kg: 10 ml >40 kg: 10 ml	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0.5 – 4 ml. Botella aeróbica de

				adulto si el volumen es mayor de 4 ml
	12 – 17 años	Vena periférica, considerar dos venas de sitios separados para 2 cultivos	27-40 kg: 10 ml >40 kg: 10 ml	Botella pediátrica aeróbica si el volumen es menor de 0.5 – 4 ml. Botella aeróbica de adulto si el volumen es mayor de 4 ml

Flujograma de toma de hemocultivo



Hemocultivos de control



Incubación:

- Incubar los frascos de hemocultivos a 35 – 37°C Hasta por 7 días.
- Examinar visualmente y con luz transmitida los frascos de hemocultivo después de 12 a 24 horas de incubación.
- La observación de turbidez o lisis de los glóbulos rojos es indicativo de crecimiento bacteriano; entonces se realiza una coloración Gram y un subcultivo.
- Si no se observa lisis o turbidez seguir observando todos los días para ver si aparecen signos de crecimiento hasta los 7 días después.

Subcultivo:

- Se deben realizar en cabina o cerca de un mechero Bunsen dentro de las 24 horas
- Desinfectar la superficie de la tapa del frasco del hemocultivo con alcohol de 70%

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 96 - 141	

- Con una jeringa estéril, extraer a través del tapón la muestra de sangre.
- Inocular una gota en el extremo en los medios de cultivo de Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Mac Conkey, Agar Saboraud
- Colocar otra gota en un porta objeto realizar coloración Gram
- Con un asa realizar la siembra por dispersión y agotamiento en los cuatro cuadrantes de las placas
- Incubar las placas a 35 – 37°C / 24 – 48 horas pero las placas de Agar Sangre, Agar Chocolate en jarra con CO₂ al 5 %
- Si no hubiera desarrollo repetir el procedimiento al 5° y 7° día.

Lectura de subcultivos

- Observar el crecimiento de colonias a las 24 horas, si no hubiera crecimiento seguir incubando 24 horas más
- Una vez realizada la lectura se llevara a cabo el repique en los medios CromAgar realización de pruebas bioquímicas y antibiograma.

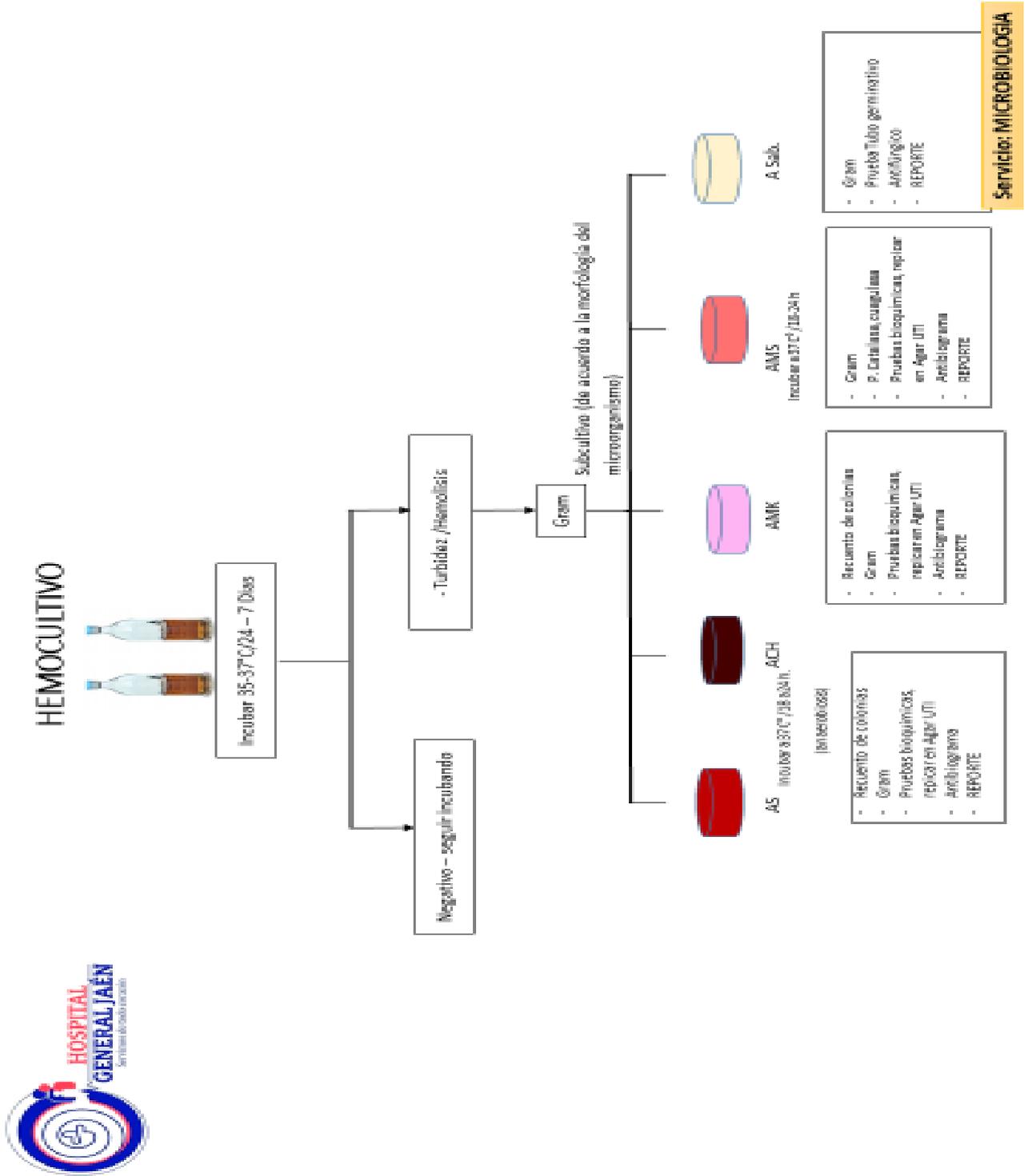
RESULTADOS

- No todos los hemocultivos positivos presentan bacteriemia verdadera, deben considerarse los datos clínicos individuales ya que puede ser causada por una contaminación accidental de los medios de cultivo, por la microbiota cutánea del paciente o el personal que realiza la toma del hemocultivo, en el momento de la extracción o durante su procesamiento en el laboratorio.
- Staphylococcus coagulasa negativo, corinebacterias y especies de Bacillus son contaminantes frecuentes y a menudo se aíslan en una sola muestra.
- Se informará el resultado de cada frasco de hemocultivo individualmente.
- Las bacteremias verdaderas son producidas por microorganismos presentes en la sangre. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* y otras *Enterobacterias*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* son responsables en un alto porcentaje de casos de bacteremia verdadera. ⁽³⁰⁾

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 97 - 141	

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. Laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de microbiología	Tec. Laboratorio
3	Anotar en el cuaderno de registro de hemocultivos, los datos completos del paciente y en las botellas el código correspondiente.	Tec. Laboratorio
4	Incubar los frascos de hemocultivos a 35 – 37°C/ 7 días. Examinar visualmente y con luz transmitida los frascos de hemocultivo después de 12 a 24 horas de incubación. La observación de turbidez o lisis de los glóbulos rojos es indicativo de crecimiento bacteriano.	Tecnólogo médico o Biólogo
5	Realizar subcultivos en placas de agar Sangre, agar Chocolate (incubar a 37°C/24 horas en anaerobiosis), Agar Mac Conkey, Agar Saboraud (incubar 37°C/24 horas aerobiosis) Realizar coloración Gram.	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Lectura de subcultivos a las 24 y 48 horas. Detallar las características de las colonias realizar pruebas como coloración Gram, catalasa, oxidasa	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Repique de colonias en los medios CromAgar, pruebas de identificación y antibiograma. Incubar 37°C/24 horas en aerobiosis	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Si se observa crecimiento bacteriano de un solo tipo de colonias proceder a la realización del antibiograma según metodología disponible en el laboratorio. Si no fuera el caso esperar 24 horas el crecimiento en cromoagar para la realización del antibiograma	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Lectura de pruebas bioquímicas y antibiograma, según metodología empleada del mismo. Basándose en la norma CLSI	Tecnólogo médico o Biólogo
10	Realizar pruebas complementarias para la identificación de presencia de enzimas de resistencia bacteriana	Tecnólogo médico o Biólogo
11	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT. El mismo día de terminar con el procedimiento del cultivo	Tecnólogo médico o Biólogo
12	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo de la hora del sembrado de la muestra, del crecimiento bacteriano. A partir del 4to día sembrada la muestra	Tec. Laboratorio
Fin del procedimiento		

FLUJOGRAMA DE PROCESO DE HEMOCULTIVO



	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 99 - 141	

18. COPROCULTIVO

Fundamento:

El médico, frente a un paciente que acude por presentar un cuadro diarreico, debe decidir cuál es la posible etiología y qué tipo de tratamiento debe dar, por lo que recurre al laboratorio a fin de obtener un diagnóstico microbiológico que permita realizar un abordaje racional de la enfermedad. Se conoce que la mayoría de los cuadros diarreicos son autolimitados y que, si bien en algunos casos la etiología es microbiana, en muchos otros pueden deberse a una toxina química, un cuadro alérgico o algún alimento irritante como el alcohol. Un interrogatorio y examen físico apropiados, aunados al examen de las heces pueden ayudar al médico a decidir si se trata de una diarrea secretoria, donde hay gran pérdida de líquido y lo que necesita el paciente es hidratación; o una diarrea inflamatoria donde hay invasión de la mucosa por bacterias como *Shigella flexneri* o *Campylobacter*, y las heces presentan moco, sangre o ambos, casos en los cuales sí es necesario el uso de antibióticos. ⁽³¹⁾

OBTENCION DE LA MUESTRA:

La muestra de heces de un paciente sospechoso de EDA y Cólera debe recolectarse antes de la administración de antibiótico. El hisopado rectal se obtiene con un hisopo de algodón previamente esterilizado, se lubrica previamente introduciéndolo en el medio de transporte y luego se introduce en el recto unos 3 cm, realizando movimientos de rotación. Luego se introduce el hisopo en el fondo del tubo del medio de transporte que puede ser el de Cary y Blair o el de Amies. Cuando las deposiciones son evacuadas en un recipiente la muestra se puede obtener directamente con el hisopo. **NO SE DEBE REFRIGERAR LA MUESTRA.**

Cuando se debe cultivar las heces?

- La decisión depende de la historia clínica y del entorno epidemiológico
- Tener en cuenta: edad, cuadro clínico, presencia de leucocitos, tipo de diarrea líquida o disentérica, fiebre, hospitalización (no solicitar coprocultivo a pacientes con más de 3 días de hospitalizados) ⁽³⁰⁾

PROCEDIMIENTO

Antes de realizar el coprocultivo se debe hacer un pre-análisis

1er DIA

Examen macroscópico:

Color, aspecto, presencia de sangre, presencia de moco y otras estructuras observables.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 100 - 141	

Examen microscópico directo:

Leucocitos, hematíes, estructuras parasitarias, restos alimenticios, otros

Frotis fecal: (tinción Gram y/o azul de metileno)

Polimorfonucleares, microbiota fecal, gérmenes espirilados

SIEMBRA PRIMARIA:

Sembrar en medio de enriquecimiento caldo selenito.

Con asa de 10 ul sembrar en agar SS, agar Mac. Conkey, XLD, agar TCBS se siembra en estría e incubar por 18-24 horas a 37 °C en aerobiosis; agar Campylobacter y agar sangre se siembra en estría con papel filtro de 0.45 um e incubar de 24 a 48 horas a 37 °C en anaerobiosis.

2do DIA

SUBCULTIVOS:

- Del Caldo Selenito a agar SS e incubar por 18-24 horas. a 37°C.
- De las colonias sospechosas repicar 4 - 5 a Cromagar e incubar por 18-24 horas. a 37°C.

3er DIA

- Realizar pruebas bioquímicas a las colonias sospechosas, se indica el uso de TSI (Triple Azúcar Fierro) y LIA (Agar Lisina Fierro)
- Tener la seguridad de que los tubos de **TSI y LIA** serán inoculados con la misma colonia.
- Punzar una sola vez en el medio TSI, introduciendo el alambre por el centro hasta tocar el fondo del tubo, terminando en estría en la superficie inclinada.
- Con el resto de la asada, punzar tres veces el medio de LIA hasta el fondo del tubo, terminando en estría en la superficie inclinada.
- Colocar la tira de papel indol en la boca del tubo de LIA, sin tocar el agar.
- Incubar los tubos a 35°C-37°C por 18-24 horas

4to DIA

- Realizar antibiograma según metodología disponible en el laboratorio
- Lectura e interpretación del TSI y LIA

TSI: El color del medio es rojo ladrillo Ph 7.4

La producción de Hidrógeno sulfurado se visualiza por el color negro en el medio. Se simboliza por la intensidad (1 + a 4 +).

- La acidez: El medio cambia a color amarillo y se representa con la letra A.
- La alcalinidad: El medio cambia a color grosella y se representa con la letra K.

LIA: El color del medio es ligeramente azulado (Ph 6.7)

- La alcalinidad del medio hace que el color azul se torna más intenso. Si reacciona es Lisina + se representa K/K (LDC +).
- La acidez del medio se nota en la parte inclinada cuando varía al color rojo ladrillo, el fondo vira a amarillo. Esta reacción es Lisina + se representa R/A (LDA +).
- Cuando no produce ninguna de las reacciones, el medio LIA se observará azulado en la parte inclinada y amarillo en el fondo por fermentación de la glucosa. Se representa K/A. Esta reacción es Lisina negativa
- A veces el medio puede presentarse amarillo en su totalidad, simbolizándose A/A. Esta reacción es Lisina negativa
- La reacción del indol es POSITIVA por la aparición del color rosado violáceo en la tira de papel de filtro, que se colocó previamente en la boca del tubo, se simboliza con la reacción en LIA. Si no hay ninguna variación en el LIA se representará N/N también será negativo y se puede afirmar que se trata de un germen que no pertenece a las Enterobacterias.⁽³⁰⁾

MEDIOS DIFERENCIALES PARA IDENTIFICACION DE: *Escherichia coli*

Tipo de cepa	TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL
Anaerogénicas (sin gas)	A/A	-	-	K/K	+
	K/A	ausent	ausent	K/A	presente
Aerogénicas (con gas)	K/A	++	-	K/K	+
	A/A	present	ausent	K/A	presente

Pruebas Bioquímicas	Resultado	%
Indol	Positivo	96.6
H ₂ S	Negativo	00
Urea	Negativo	00
Citrato	Negativo	0.2
Movilidad	Variable	69.1
Fermentación glucosa (amarillo)	Positivo	100
Fermentación glucosa (gas)	Positivo	90.8
Lactosa	Variable	

DETECCION DE Escherichia coli enteropatógena EPEC.

De acuerdo al grupo:

Se determina la presencia de EPEC mediante pruebas Serológicas con Antígeno somáticas (O), por la exposición a los sueros inmune anti-coli Polivalente A, B, C.

Aglutinación en lámina de vidrio:

- Preparar una suspensión bacteriana homogénea, tomando una asada del TSI o TSA y disolviendo en una gota de Solución Salina Formolada (antígeno). No proseguir con la prueba si hay muestra de autoaglutinación.
- Colocar frente a la suspensión una gota de suero (0.02ml) inmune polivalente anti-coli A,B,C.
- Mezclar ambas gotas, moviendo la lámina en vaivén aproximadamente por 15 veces para una mezcla óptima y realizar la lectura.
- Si se aprecia la reacción de la aglutinación se considera positivo y queda determinado el grupo.
- Si la muestra no aglutinara, con ningún suero polivalente, no estaríamos frente a E. coli EPEC.

Lecturas	Poliv A	Poliv B	Poliv C
EPEC Grupo A	+	-	-
EPEC Grupo B	-	+	-
EPEC Grupo C	-	-	+

De acuerdo al antígeno somático (O).

Una vez determinado el grupo se realiza otras pruebas serológicas por aglutinación en lámina de vidrio (de acuerdo al procedimiento anterior) para determinar los serotipos específicos probándoles con cada uno de los antígenos somáticos de cada grupo:

Polivalente A	Polivalente B	Polivalente C
O 26	O 86	O 18 ac
O 55	O 119	O 114
O 111	O 125	O 142
O 128	O 126	O 158
	O 127	

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DEL GENERO *Shigella*

Colonias sospechosas de *Shigella* en medio primario.

Agar XLD: Colonias pequeñas de color rojo (color del medio)

Agar SS: Colonias traslúcidas e incoloras (color del medio)

El esquema antigénico de *Shigella* se ha dividido en 4 grupos serológicos.

Identificación Bioquímica.

Lectura de las reacciones bioquímicas:

TSI : K/A (Gas de Glucosa: Negativo, H₂S: Negativo)

LIA : K/A + o (Indol variable)

A partir del TSI o TSA se realizan otras pruebas como:

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *SALMONELLAS*.

1. Observar crecimiento de colonias pequeñas transparentes inclusive colonias con producción de Hidrógeno Sulfurado. Tomar las colonias pequeñas y transparentes para sembrar en TSI-LIA.

	TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL
Salmonella typhi	K/A	-	+	K/K	-
Salmonella Paratyphi	K/A	+	-	K/A	-
Otras Salmonellas	K/A	++	++++	K/A	-

2. Pruebas serológicas:

Pruebas Serológicas con Antígeno somático (O)

Exposición a los sueros inmune anti-Salmonella:

- Polivalente A-E
- Individuales: A, B, C1, C2, D, E.

Se busca aglutinación en lámina de vidrio:

- Utilizando el antígeno, se prepara una suspensión (Se toma una asada de cultivo de TSI o TSA y se disuelve en una gota de Solución Salina Formolada) más una gota de suero (0.02 ml) inmune anti-salmonella. Mezclar ambas gotas y realizar movimientos de vaivén (aproximadamente 15 veces).
- Si se aprecia la reacción de la aglutinación se considera positivo, y queda determinado el grupo de acuerdo al antígeno somático (O).
- Si la muestra no aglutinara con ningún suero, ni con el suero polivalente A-E, no estaríamos frente a una Salmonella.
- En el caso de *Salmonella typhi*, si no aglutinara con el antígeno Vi se procederá a romper la cápsula, sometiendo a la bacteria que se encuentra en el tubo que

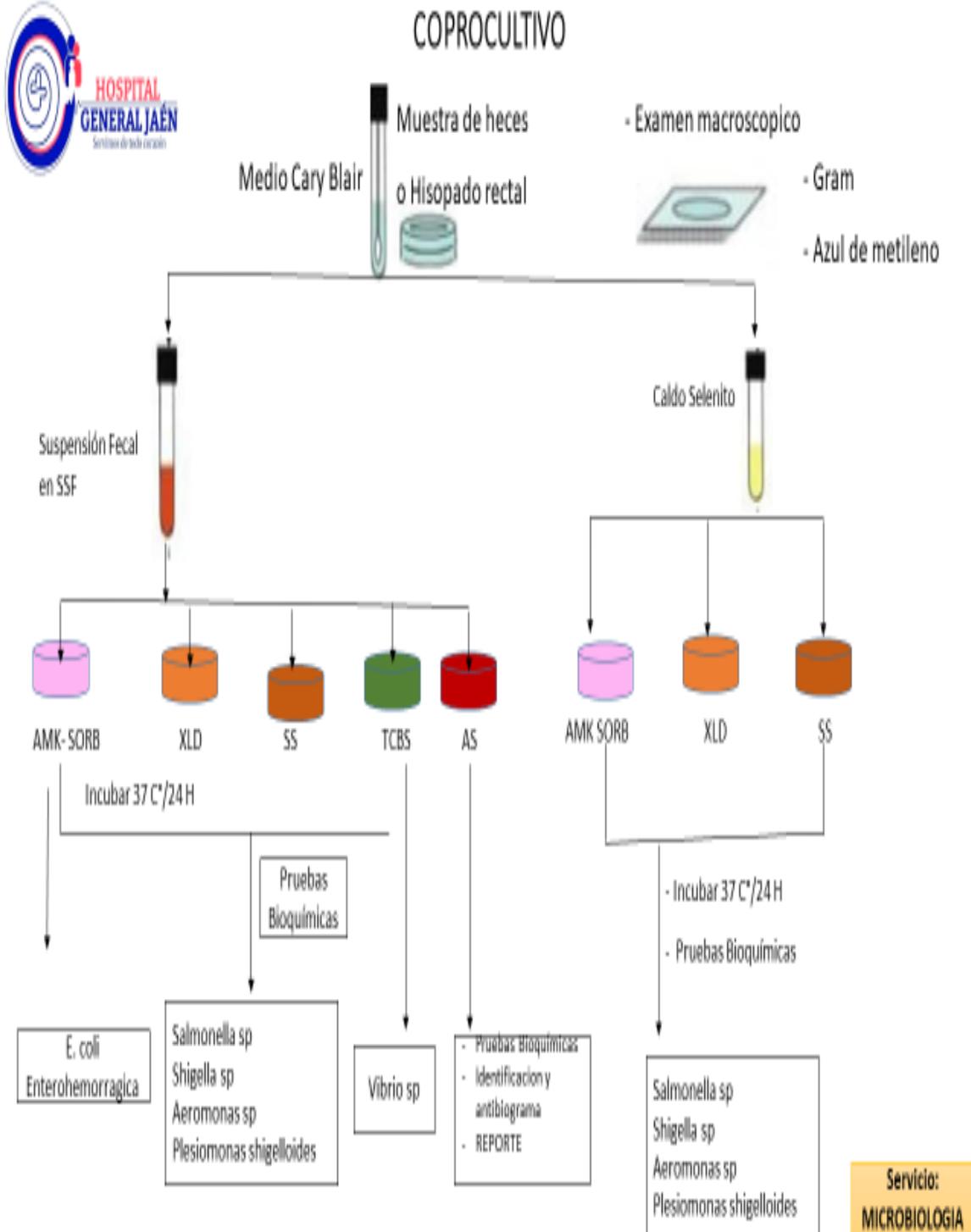
contiene TSI en agua 100c por 30 minutos.

Resultados:

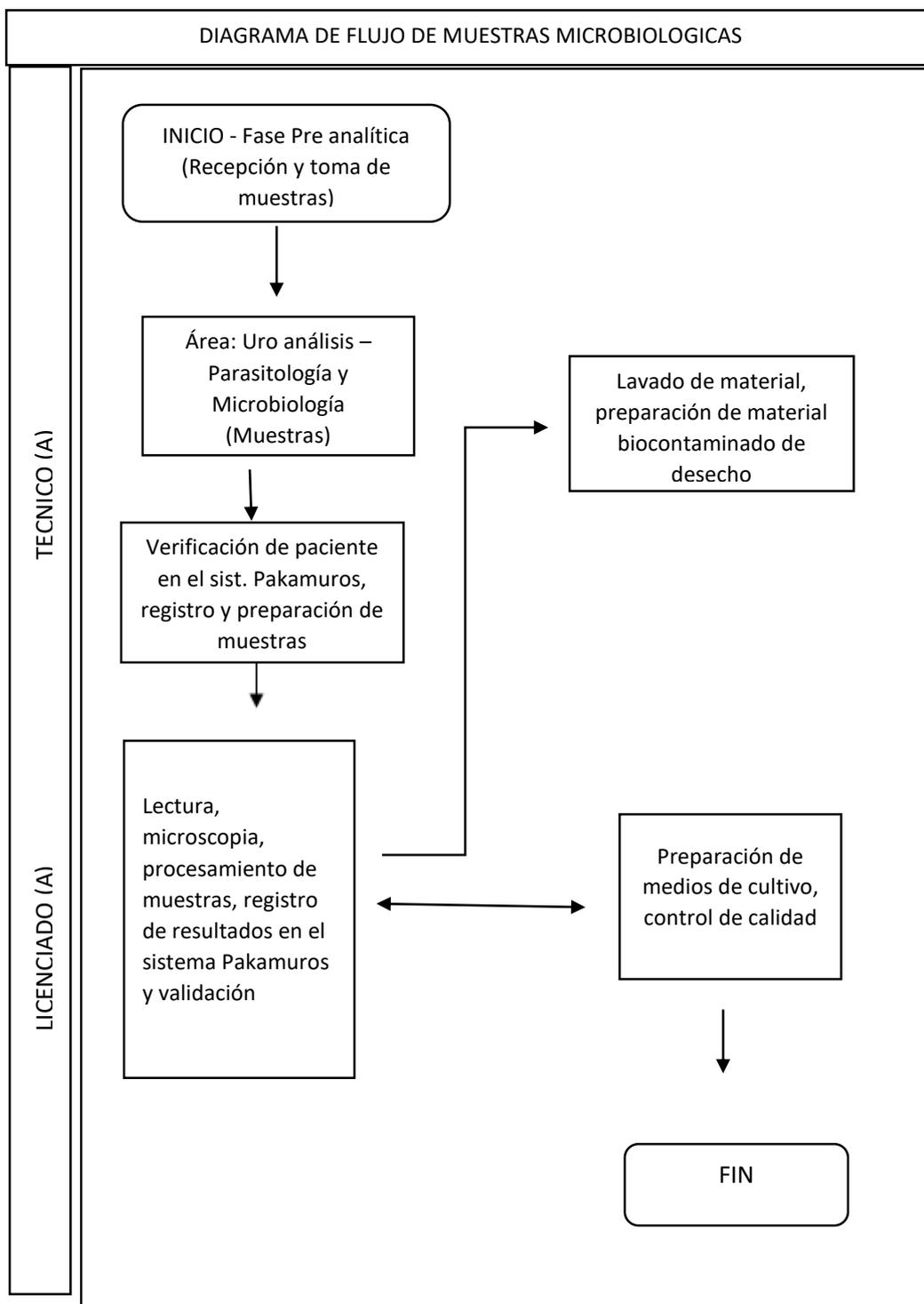
Salmonella typhi	S. paratyphi A	Otras Salmonellas
Poliv. (+)	Poliv. (+)	Poliv. (+)
D (+)	A (+)	Otros (+)
Vi (+)		

N°	ACCIONES	RESPONSABLE
INICIO DEL PROCEDIMIENTO		
1	Se recibe la solicitud de exámenes de Laboratorio, registro en sistema Pakamuros y recepción de muestra	Tec. Laboratorio
2	Se sigue criterios de aceptación y se transporta la muestra del paciente debidamente identificado a área de microbiología	Tec. Laboratorio
3	Anotar en el cuaderno de registro de coprocultivos, los datos completos del paciente y en la muestra el código correspondiente.	Tec. Laboratorio
4	Realizar las preparaciones para en examen macroscópico, microscópico y frotis fecal	Tec. Laboratorio
5	Lectura de las preparaciones microscópicas a 40X y frotis fecal a 100X	Tecnólogo médico o Biólogo
6	Realizar la siembra primaria en medio de enriquecimiento caldo selenito, agar XLD, SS, agar Mac. Conkey, agar TCBS se siembra en estría e incubar por 18-24 horas a 37 °C en aerobiosis; agar Campylobacter y agar sangre se siembra en estría con papel filtro de 0.45 um e incubar de 24 a 48 horas a 37 °C en anaerobiosis.	Tecnólogo médico o Biólogo
7	Subcultivos: -Del caldo selenito a agar SS -Repique de colonias sospechosas a Cromagar, Incubar 37°C/24 horas en aerobiosis.	Tecnólogo médico o Biólogo
8	Pruebas de identificación y antibiograma. Incubar 37°C/24 horas en aerobiosis	Tecnólogo médico o Biólogo
9	Lectura de pruebas bioquímicas y antibiograma, según metodología empleada del mismo. Basándose en la norma CLSI	Tecnólogo médico o Biólogo
10	Realizar pruebas complementarias para la identificación de presencia de enzimas de resistencia bacteriana	Tecnólogo médico o Biólogo
11	Reporte y validación al sistema PAKARAMUROS SOFT. El mismo día de terminar con el procedimiento del cultivo	Tecnólogo médico o Biólogo
12	Tiempo de entrega de resultados se basa dependiendo de la hora del sembrado de la muestra, del crecimiento bacteriano. A partir del 4to día sembrada la muestra	Tec. Laboratorio
Fin del procedimiento		

FLUJOGRAMA DE COPROCULTIVO



7.2 DIAGRAMA DE FLUJO



	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 107 - 141	

7.3 INDICACIONES

i. INDICACIONES ABSOLUTAS

- El laboratorio clínico de Microbiología requiere para su correcto funcionamiento, de un adecuado y constante control de calidad en todas las etapas, en la recepción, manejo y reporte de muestras clínicas. En general este control debe identificar, monitorear, evaluar y aprobar metodologías relativas al cuidado del paciente.
- La descripción de los procedimientos del laboratorio de microbiología clínica facilita el trabajo en el área, ya que establece un sistema de información que sirve de consulta para todo el personal involucrado. Nos permite conocer las etapas pre analítica, analíticas y post analíticas de una muestra biológica a cultivar y sus respectivos responsables de ejecución en cada etapa del procedimiento.
- El diagnóstico microbiológico comprende mucho más, que un cultivo positivo; el profesional para realizarlo deberá conocer algunos datos esenciales de la muestra y del paciente. Toda la información diagnóstica que el Servicio de Microbiología puede proporcionar depende de la calidad de la muestra recibida. Una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, pudiendo inducir a errores diagnósticos e incluso a un tratamiento inadecuado del paciente. La parte más decisiva de un análisis microbiológico, es por tanto la adecuada recogida de una muestra representativa y su rápido envío al Servicio de microbiología para poder estudiarla inmediatamente o conservarla en condiciones óptimas.

ii. INDICACIONES RELATIVAS

- Los cultivos son esenciales para determinar la identidad y cantidad exacta de las bacterias y para reconocer si los microorganismos encontrados en una muestra son patógenos o inocuos.
- El propósito del análisis microbiológico de una muestra es determinar si existe una infección y si existe, identificar el microorganismo que la produce. Para determinar si existe infección debemos hacer un recuento del número de microorganismos que hay en una muestra que debe ser recolectada en máximas medidas de asepsia para evitar contaminación y el reporte final se brindara durante 3 a 5 días después.
- La obtención de las muestras clínicas adecuadamente es lo primordial para un buen diagnóstico microbiológico y estas deben ser representativas del proceso

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 108 - 141	

infeccioso que se pretende diagnosticar, teniendo siempre en cuenta que en determinadas infecciones, muestras no relacionadas directamente con la focalidad clínica pueden tener también un buen rendimiento microbiológico.

- La implementación de esta Guía de Microbiología Clínica ayudara a que los procedimientos se lleven a cabo con calidad interpretando cuidadosamente y cada día mejorar el servicio en bien del paciente.

7.4 CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO DE MUESTRAS

- El laboratorio de microbiología clínica determinara si esta cumple con los siguientes criterios para ser procesada:
 - Correcta identificación
 - Tipo de muestra adecuada para la petición
 - Condiciones adecuadas de transporte y conservación
- Son criterios de rechazo de las muestras:
 - Identificación inadecuada: no se aceptara una muestra sin identificar, mal identificada o en la que no coincidan la identificación con la solicitud de la muestra. **NO SE PROCESA**
 - Obtención de la muestra inadecuada: muestra inadecuada para la solicitud **NO SE PROCESA.**
 - Muestras no adecuadas para el cultivo como punta de sonda urinaria, punta de drenaje, loquios, vómitos, muestras duplicadas en el mismo día (excepto sangre y tejidos) **NO SE PROCESA** las dos muestras, solo se procesa una muestra informando al solicitante.
 - Muestras derramadas: no se aceptarán muestras claramente derramadas y se solicitara una nueva muestra.
 - Volumen inadecuado: Se solicitara nueva muestra.
 - Uso de recipiente inadecuado: Se solicitara nueva muestra
 - Transporte inadecuado, Medio de transporte, temperatura y/o tiempo inadecuado o muestras transportadas en formol: **NO SE PROCESA.**

CONSERVACION Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

- Las muestras deben ser enviadas lo más pronto posible al Servicio de Microbiología para ser procesadas lo antes posible (preferiblemente en las dos primeras horas desde su recogida).

- Siempre que sea posible se recomienda programar la toma y envío de muestras en horario diurno.
- El transporte de las muestras hospitalarias será a temperatura ambiente. ⁽³²⁾

En la Tabla N° 05. Volumen, transporte y conservación de muestras

Muestra	Vol. (ml)	Determinación	Envase para anaerobios/jeringas sin aguja (amies / stuart)	Transporte /Tiempo / T°	Conservación
Abscesos	1	Bacterias	Envase para anaerobios/jeringas sin aguja (amies / stuart)	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
heridas quemaduras mordeduras		Hongos	Estéril (amies / stuart)	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
Biopsias	No aplica	Bacterias hongos	Estéril	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, TA
Catéter material protésico	No aplica	Bacterias hongos	Estéril	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, 2 a 8 °C
Catéter urinario		No aceptable			
Catéter drenaje	No aplica	No se recomienda	Enviar liquido drenaje / abscesos / aspirados		
Secreción prostática		Bacterias hongos	Estéril	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
Cervical uretral rectal	No aplica	Chlamydia trachomatis	Medio de transporte clamidia (cultivo)	inoculación inmediata	
Cervical uretral rectal	No aplica	Bacterias gonococo	Inoculación directa sobre medios de cultivo / torunda con medio de transporte	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
Líquido amniótico	No aplica	Bacterias hongos	Transporte para anaerobios	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, TA
Semen	No aplica	No se recomienda			

Secreción vaginal	No aplica	Bacterias hongos	Torunda con medio de transporte (cultivo) / torunda seca para Gram	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
Heces	1 -- 2	Bacterias	Estéril con Cary Blair		≤ 24 horas, 2 a 8 °C
	1 -- 2	Clostridium difficile	Estéril	≤ 1 horas, TA / 1- 24 h, 2 - 8 °C	48 h, 2 a 8 °C
Jugo gástrico	1 a 5	Bacterias hongos	Estéril	≤ 2 horas, 2 a 8 °C	≤ 2 horas, 2 a 8 °C
	> 10	Micobacterias	Estéril	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, 2 a 8 °C
Lesiones fúngicas (piel, pelo, uñas)	No aplica	Hongos	Inoculación directa sobre medios de cultivo	≤ 24 horas, TA	
Líquidos estériles medula ósea	1 a 5	Bacterias	Estériles / Botellas de hemocultivos	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, TA
	> 10	Hongos	Estéril	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, 2 a 8 °C
Raspado corneal conjuntiva	Inoculación directa	Bacterias hongos	Inoculación directa sobre medios de cultivo	≤ 15 min, TA	≤ 2 horas, TA
Oído externo, interno	No aplica	Bacterias hongos	Torunda con medio de transporte	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, 2 a 8 °C
Orina	Bacterias: 0.5 - 1 Hongos: > 20	Bacterias hongos	Estéril	≤ 2 horas, TA	≤ 4 horas, 2 a 8 °C
Rectal	No aplica	Bacterias	Torunda con medio de transporte	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA
Sangre	Neonatos: 1 - 2 Menores de 12 años: 2 - 5 Mayores	Hemocultivo	Botellas de hemocultivos	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA

	de 12 años: 10 - 20				
Tracto respiratorio (sinusal, faríngeo, nasal, nasofaríngeo, inferior, esputo)	3 a 5	Bacterias / hongos	Torunda con medio de transporte / Estéril	≤ 2 horas, TA	≤ 2 horas, TA

7.5 RIESGOS O COMPLICACIONES FRECUENTES Y/O POCO FRECUENTES

- Pacientes no toman en cuenta las recomendaciones que se le indica antes de recolectar una muestra de orina o heces.
- Pacientes recolectan muestra de orina sin previa higiene para el examen de Urocultivo
- Tiempo de traslado de muestras de los servicios de hospitalización o emergencia después de varios minutos de recolectada.
- Colectores de muestras inadecuados

7.6 CONTRAINDICACIONES

- Paciente de consultorio externo que llegue con muestra de orina con solicitud de urocultivo después de las 10 de la mañana
- Paciente que no siguió las recomendaciones de dieta para el examen de thevenon
- Paciente con tratamiento dérmico con solicitud de raspado de piel

7.7 MANEJO DE COMPLICACIONES

No aplica

VIII. RECOMENDACIONES

El monitoreo y supervisión de lo descrito en la presente Guía es responsabilidad del jefe de departamento, del jefe y / o coordinador de patología clínica

Socializar con los servicios que intervienen con el desarrollo del procedimiento de la guía técnica.

IX. ANEXOS

ANEXO 01: INDICADORES DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

El laboratorio debe establecer indicadores de calidad para hacer seguimiento y evaluar el desempeño en todos los aspectos críticos de los procesos pre analíticos, analítico y postanalíticos. Un indicador es un grupo de datos que se utiliza para medir de forma objetiva un proceso en el espacio y tiempo.

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 01
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Solicitudes medicas correctamente llenada
Finalidad del indicador	Este indicador permitirá tener datos exactos, confiables y así tener un mejor registro de cada paciente. Orientando a tener menos errores al momento de la toma de muestra del paciente. Con datos completos de identificación, diagnostico, tipo de muestra adecuada para la petición del cultivo.
Fórmula	$\frac{\text{Número de Solicitudes medicas correctamente llenada}}{\text{Total de Solicitudes medicas}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≥ 80%
Fuente de Datos	Solicitud medica ingresadas al servicio de Microbiología
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 02
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Nueva muestra
Finalidad del indicador	Este indicador permitirá obtener muestras aceptables para su procesamiento y así obtener resultados confiables. El personal de registros de muestras y/o personal de toma de muestras se limitan a recibir las muestras tal cual las envía el paciente. Las muestras no serán ingresadas a la fase analítica se solicitara nueva muestra por ende la muestra será rechazada o devuelta. Se debe capacitar al personal de salud y mejorar la comunicación entre el personal de salud y paciente.
Fórmula	$\frac{\text{Número de nueva muestra solicitada}}{\text{Total de muestras ingresadas al servicio}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	$\leq 0.5\%$
Fuente de Datos	Muestras clínicas ingresadas al servicio de Microbiología
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 03
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Condiciones adecuadas de transporte y conservación de la muestra
Finalidad del indicador	Este indicador permitirá obtener muestras aceptables para su procesamiento y así obtener resultados confiables. La existencia de criterios de aceptabilidad y rechazo contribuye a la calidad de los resultados, las muestras en condiciones inadecuadas y mal conservadas no pasaran a la fase analítica.
Fórmula	$\frac{\text{Condiciones adecuadas de transporte y conservación de la muestra}}{\text{Total de muestras ingresadas al servicio}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≥ 80%
Fuente de Datos	Muestras clínicas ingresadas al servicio de Microbiología
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 04
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Contaminación de hemocultivos de sangre periférica
Finalidad del indicador	Mala técnica de sepsis de la piel, retraso del diagnóstico, gasto innecesario en procesamiento de botellas contaminadas.
Fórmula	$\frac{\text{Contaminación de hemocultivos de sangre periférica}}{\text{Total hemocultivos tomados}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≤ 0.2 %
Fuente de Datos	Hemocultivos ingresadas al servicio de Microbiología
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 05
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Botellas de hemocultivos con volumen adecuado de sangre
Finalidad del indicador	El rendimiento del hemocultivo depende del volumen sanguíneo inoculado entre otros factores.
Fórmula	$\frac{\text{Botellas de hemocultivos con volumen adecuado de sangre}}{\text{Total hemocultivos recibidos}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≥ 80 %
Fuente de Datos	Hemocultivos ingresadas al servicio de Microbiología
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 06
Proceso	Fase Pre-analítica de Microbiología Clínica
Indicador	N° de concordancia del Gram con la identificación final del cultivo
Finalidad del indicador	Este indicador mide la concordancia del Gram directo de las muestras para cultivo con el resultado final de la identificación del cultivo.
Fórmula	$\frac{\text{n° de Gram concordantes}}{\text{n° total de Gram de cultivos realizados}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≥ 98 %
Fuente de Datos	Muestras para cultivo ingresadas al servicio de Microbiología.
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 07
Proceso	Fase Analítica de Microbiología Clínica
Indicador	% Cumplimiento de plazos de entrega de resultados
Finalidad del indicador	Desde que llega la muestra hasta que se emite un resultado de calidad y confianza dando un tiempo razonable, con tecnologías actualizadas estandarizando el tiempo de entrega. Un resultado oportuno tendría implicancia en la recuperación del paciente.
Fórmula	$\frac{\text{n}^\circ \text{ exámenes informados dentro del plazo de entrega}}{\text{n}^\circ \text{ total de exámenes recibidos}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≥ 80%
Fuente de Datos	Resultados entregados del servicio de microbiología. Según sistema PAKAMUROS
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 08
Proceso	Fase Analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Informes corregidos
Finalidad del indicador	Es el resultado normalmente de un reclamo o disconformidad del medico
Fórmula	$\frac{\text{n}^\circ \text{ de informes corregidos}}{\text{n}^\circ \text{ total de informes realizados}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≤ 2
Fuente de Datos	Resultados entregados del servicio de microbiología. Según sistema PAKAMUROS
Responsable	Licenciado de turno

FICHA DE INDICADOR	
Código indicador	IMC - 09
Proceso	Fase Analítica de Microbiología Clínica
Indicador	Gestión de no conformidades
Finalidad del indicador	Por falta de planificación de actividades, personal no programado todos los días en el área, Personal de guardia no involucrado en dar continuidad y/o seguimiento a los procedimientos de los cultivos, realización de antibiogramas con colonias con más de 24 horas de crecimiento.
Fórmula	$\frac{\text{n}^\circ \text{ de actividades no conforme}}{\text{n}^\circ \text{ total de actividades}} \times 100$
Unidad de medida	Porcentaje
Frecuencia	Suma de datos acumulados por trimestre
Oportunidad de medida	Al día 10 después de cada trimestre evaluado
Línea base	No tiene
Meta	≤ 2
Fuente de Datos	Exámenes realizados según sistema PAKAMUROS
Responsable	Licenciado de turno

ANEXO 2: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD MEDIOS DE CULTIVO.

	REGISTRO CONTROL DE CALIDAD MEDIOS DE CULTIVO	Fecha emisión:
		Revisión: 0
		Fecha revisión:
MICROBIOLOGIA		FOLIO:

Nombre del Medio de Cultivo:

Cepa 1:	Cepa 4:
Cepa 2:	Cepa 5:
Cepa 3:	

Fecha Control	Lote Fabricac.	Fecha Vencim.	Altura del medio mm	pH	Control de Esterilidad		Observaciones	Leído por
					24 hrs	48 hrs		
					100 %	5-10%	Si: aprueba No: rechaza	

ANEXO 3: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD DE REACTIVOS.

	REGISTRO CONTROL DE CALIDAD DE REACTIVOS	Fecha emisión:
		Revisión: 0
		Fecha revisión:
MICROBIOLOGIA		FOLIO:

Nombre del reactivo:

Periodicidad del control:

Cepa control positiva:

Cepa control negativa:

Fecha control	Fecha de preparación	Fecha de expiración	Resultado Cepa +	Resultado Cepa -	Observaciones	Leído por

ANEXO 4: FORMULARIO CONTROL DE CALIDAD ANTIMICROBIANOS.

	REGISTRO CONTROL DE CALIDAD DE ANTIMICROBIANOS	Fecha emisión:
		Revisión: 0
		Fecha revisión:
MICROBIOLOGIA		FOLIO:

Cepa control:

Periodicidad del control:

Método: Difusión..... **CIM**.....

Fecha control	Lote agar	Leído por	Nombre de antimicrobianos usados								
			Antim.	lote	Halo	Antim.	Lote	Halo.	Antim.	Lote	Halo.

OBSERVACIONES:

Nota: se debe contar con un formulario por cada una de las cepas ATCC de control y por método.

Fecha control	Antimicrobiano	No conformidad

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 125 - 141	

ANEXO 6: PAUTAS CONTROL DE CALIDAD INTERNO DE MEDIOS DE CULTIVO.

Cada lote de medio de cultivo preparado y/o de fuente comercial, debe ser controlado en el laboratorio del usuario usando agua destilada o bidestilada, para lo cual es necesario realizar:

Volumen de medio de cultivo a plaquear: El volumen dependerá del tamaño de la placa Petri.

- Placas de 70 ml. - 15 ml,
- Placas de 80 ml. – 20 ml.
- Placas de 90 ml. – 25 ml.
- Placas de 100 ml. – 30 ml.
- Placas de 150 ml. – 70 ml.

Control de Esterilidad: Incubar 24 horas a 37° C el 100% y luego 24 horas más a temperatura ambiente, seleccionar al azar, entre un 5 a un 10 % de las unidades preparadas. Escoger tubos del centro del material esterilizado.

Control de Propiedades de los Medios de Cultivo: Las cepas controles a usar, dependen de las características de los medios a controlar, los cuales pueden ser:

- Medios Nutritivos: se observa la capacidad de desarrollo de los microorganismos.
- Medios Selectivos: estimula el desarrollo de un grupo de bacterias, inhibiendo otras.
- Medios Diferenciales: se observa la respuesta a características bioquímicas.

Control de pH: De acuerdo a las indicaciones del fabricante. Para Müller Hinton se debe considerar 7.3 +- 0.1,

Control de Fecha de Expiración: En general los medios de cultivo conservados en refrigeración duran 14 días, pudiendo mantenerse por períodos de hasta 2 meses en bolsas selladas. ⁽³³⁾

GUÍA PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO

A. CEPAS CONTROL:

Selección de cepas control: Se recomienda el uso de cepas ATCC, y es aceptable usar otras cepas de la misma especie con similares características.

Las cepas ATCC se emplean para:

- Control de calidad de tinciones

- Control de calidad de medios de cultivo básicos, enriquecidos, selectivos y diferenciales.
- Sensibilidad antibacteriana cualitativa y/o cuantitativa.
- Control de calidad de reactivos para pruebas diferenciales.
- Identificación microbiana por sistemas manuales y automatizados.

CEPAS DE REFERENCIA	N° ATCC
Escherichia coli	ATCC 25922
Staphylococcus aureus	ATCC 25923
Pseudomonas aeruginosa	ATCC27853
Escherichia coli	ATCC 35218
Enterococcus faecalis	ATCC 29212
Haemophilus influenzae	ATCC 49247
Haemophilus influenzae	ATCC 49766
Neisseria gonorrhoeae	ATCC 49226
Staphylococcus aureus	ATCC 43300
Streptococcus pneumoniae	ATCC 49619
Klebsiella pneumoniae	ATCC BAA – 1705
Klebsiella pneumoniae	ATCC BAA – 1706
Staphylococcus aureus	ATCC BAA – 976
Staphylococcus aureus	ATCC BAA - 977

Mantención de cultivos stock:

- Cepa ATCC o similar debe ser propagada y alicuotada.
- Mantener congelada y/o liofilizada.
- Realizar el primer traspaso a medio sólido para obtener semilla.
- Suspender en leche al 20% (0.5 a 1.0 ml)
- Congelar a - 50° C, duración 1 año.
- Congelar a - 70° C, duración indefinida.
- Cultivo liofilizado, duración indefinida.
- Controlar viabilidad por lo menos una vez al año.

Propagación de Cultivos Stock para su uso:

- Se recomienda realizar no más de 4 sub-cultivos.

- Para trabajar viales congelados se colocan en agua tibia y se cultiva en medio apropiado.
- No recongelar
- Sembrar en tendidos y placas las que servirán como cultivo primario. Estos pueden ser mantenidos por un período no superior a 4 semanas.

Preparación del inóculo: El inóculo varía dependiendo de la capacidad nutritiva o inhibitoria del medio a probar y sí las bacterias son más o menos exigentes en sus requerimientos.

- **Bacterias no Fastidiosas:** se utiliza un caldo soya tripticasa con 4 a 5 horas de incubación en fase de crecimiento exponencial. Dejar a una concentración equivalente 0.5 Mac Farland.
- **Bacterias Fastidiosas:** se utiliza un cultivo de 18 a 24 horas de incubación en medio sólido apropiado. Se realiza una suspensión equivalente a 0.5 Mac Farland.
- **Capacidad Nutritiva:** El inóculo estandarizado 0.5 Mac Farland (10^7 a 10^8 / UFC / ml), se diluye 1/100 con solución salina 0.9 %. Se inocula las placas con 10 ul., lo que da una concentración final de 10^3 a 10^4 UFC / placa.
- **Capacidad Inhibitoria:** Se utiliza una dilución de 1/10 de la suspensión 0.5 Mac Farland de la cual se inoculan 10 ul. Obteniéndose una concentración de 10^4 a 10^5 UFC / placa.
- **Medios en tubo:** Se inocula 10 ul de la suspensión 0.5 Mac Farland 10^5 a 10^6 UFC / tubo.
- **Medios en profundidad:** Medios como TSI, LIA, MIO, se recomienda usar asa en punta directo del cultivo original.⁽³³⁾

B. TABLAS DE REFERENCIA

1. Medios sólidos:

1.1 Medios nutritivos:

Medio	Cepa control	Resultado esperado	Incubación
Agar Sangre	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> *	-Desarrollo β hemolisis -Desarrollo α hemolisis	Aerobio sis 18-24

			hrs. 35°C
Agar Chocolate	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	-Desarrollo -Desarrollo -Desarrollo	5-10% CO ₂ 24 hrs. 35 °C
Agar nutritivo: TSA; Müller Hinton, Cerebro corazón;	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> * <i>Cándida albicans</i> *	-Desarrollo -Desarrollo -Desarrollo -Desarrollo	Aerobiosis s 18-24 hrs 35 °C

*Cepa ATCC

1.2 Diferenciales – selectivos:

Medio	Cepa control	Resultado esperado	Incubación
Agar Mac Conkey	- <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> Typhimurium - <i>Enterococcus faecalis</i>	-Colonias rojas (Lac+) -Colonias incoloras (Lac-) -Escaso o nulo desarrollo	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C
Agar S-S	- <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>-Shigella flexneri</i> <i>-Escherichia coli</i> *	-Col. incolora centro negro (Lac-,H ₂ S +) -Col. incolora (Lac- ,H ₂ S -) -Col. roja (Lac+) escaso desarrollo	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C
Agar XLD	- <i>Salmonella</i> Typhimurium <i>-Shigella flexneri</i> <i>-Escherichia coli</i> *	-Colonias rojas centro negro (Xil-,Sac-,Lac-,H ₂ S+) -Colonia roja (Xil-,Sac-,Lac-, H ₂ S-) -Colonia amarilla (Lac+, H ₂ S-)	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C

Agar Bismuto Sulfito	- <i>Salmonella</i> Typhi - <i>Salmonella</i> Typhimurium - <i>Escherichia coli</i> *	-Colonia negra con halo café -Colonia negra brillo metálico -Colonia verde	Aerobiosis 48 hrs. 35°C
Agar T C B S	- <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Vibrio parahaemolyticus</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Colonia amarilla (Sacarosa +) -Colonia verde (Sacarosa -) -Sin desarrollo	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C
Agar sangre telurito	- <i>Corynebacterium diphtheriae</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo colonias negras -Sin desarrollo	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C
Agar MacConkey Sorbitol	- <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Escherichia coli</i> - <i>Proteus mirabilis</i>	-Sin desarrollo -Col.roja (Sorbitol +) -Incoloro (Sorbitol -)	Aerobiosis 18-24 hrs 35 °C
Agar Manitol Salado	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Col. amarilla (Manitol +) -Col.roja (Manitol -) -Sin desarrollo	Aerobiosis 72 hrs. 35°C

*Cepa ATCC

1.3 Medios selectivos:

Medio	Cepa Control	Resultado Esperado	Incubación
Agar Thayer Martin	- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo -Sin Desarrollo -Sin Desarrollo	5-10 % CO ₂ 24-48 hrs 35 °C
Medio Selectivo para Campylobacter	- <i>Campylobacter yeyuni</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo -Sin Desarrollo -Sin Desarrollo	Microaerofilia 5-10 % CO ₂ 10% H ₂ y 80% N 48 hrs. 35 °C

Medio Selectivo para Bordetella	- <i>Bordetella pertussis</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>	-Desarrollo -Sin Desarrollo	Aerobiosis ;Cámara húmeda 7 días 35 °C
Medio Selectivo para Legionella BCYE	- <i>Legionella pneumophila</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo -Sin Desarrollo -Sin Desarrollo	CO ₂ 5-10 % ;Cámara húmeda 7-14 días 35 °C
Medio Selectivo para Mycoplasma pneumoniae SP4	- <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-Desarrollo	Aerobiosis o Microaerofilia Hasta 30 días 35 °C

1.4 Medios de transporte: Incubación en Aerobiosis a 35° C

Medio	Cepa control	Resultado Esperado
Stuart	- <i>Corynebacterium diphtheriae</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Shigella flexneri</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> *	Desarrollo entre las 24 a 48 hrs. en subcultivo.
Amies (con charcoal)	- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> - <i>Shigella flexneri</i> - <i>Streptococcus pneumoniae</i> *	Desarrollo entre las 24 a 48 hrs. en subcultivo.
Amies (sin charcoal)	- <i>Haemophilus influenzae</i>	Desarrollo entre las 24 A 48 hrs. en subcultivo.
Cary - Blair	- <i>Shigella flexneri</i> - <i>Campylobacter sp.</i>	-Desarrollo entre las 18 a 24 hrs. -Desarrollo a las 48 hrs en los subcultivos.

*Cepa ATCC

1.5 Medios diferenciales: Incubación en Aerobiosis, 18-24 hrs. a 35°C.

Medio	Cepas Control	Reacción Esperada
King A	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Pigmento verde -Sin pigmento



King B	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Pigmento fluorescente con Luz Ultra Violeta -Sin pigmento fluorescente
Agar sangre blando	- <i>Streptococcus pyogenes</i> * - <i>Streptococcus pneumoniae</i> *	-β Hemólisis -α Hemólisis
T S I	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Proteus vulgaris</i> - <i>Shigella flexneri</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-Tendido: acidifica (amarillo), Columna: acidifica (amarillo), Gas : positivo (ruptura del agar) H ₂ S : negativo -Tendido: acidifica (amarillo), Columna: acidifica (amarillo), Gas: positivo (ruptura del agar) H ₂ S : positivo (ennegrecimiento del agar) -Tendido : alcaliniza (rojo), Columna : acidifica (amarillo), Gas : negativo, H ₂ S: negativo -Tendido : alcaliniza (rojo), Columna : alcaliniza (rojo), Gas : negativo, H ₂ S: negativo
L I A	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Proteus vulgaris</i> - <i>Shigella flexneri</i>	-Columna: púrpura (descarboxilación de la lisina positiva) Gas : positivo (ruptura del agar), H ₂ S: negativo -Columna :amarilla Tendido : rojo (desaminación de la lisina positiva) Gas : positivo (ruptura del agar) H ₂ S:positivo (ennegrecimiento del agar) -Columna : amarilla (descarboxilación lisina negativa), Gas : negativo, H ₂ S: negativo
M I O	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Movilidad: positiva (columna turbia), Indol : positivo (anillo rojo, superficie), Ornitina : positiva (columna púrpura) Movilidad: negativa (desarrollo en la picada),

		Indol: Negativo (anillo amarillo, superficie) Ornitina : negativa (columna amarilla).
Urea de Christensen	- <i>Proteus vulgaris</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Columna y tendido : rojo -Tendido : rojo -no vira
Citrato de Simmons	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Vira a azul -no vira
Bilis Esculina	- <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Streptococcus grupo viridans</i>	-ennegrecimiento del medio -no vira
Medio H ₂ S	- <i>Proteus vulgaris</i> - <i>Escherichia coli</i>	-ennegrecimiento del medio -no vira

*Cepa ATCC

2. Medios en caldo:

2.1 Caldos nutritivos:

Medio	Cepas Control	Reacción Esperada	Incubación
Caldo Hemocultivo Aerobio (Infuso Cerebro Corazón, Caldo Brucella, Caldo Columbia, Caldo Soya Tripticasa)	- <i>Streptococcus pneumoniae</i> * - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Cándida albicans</i>	-Desarrollo. -Desarrollo. -Desarrollo	18 a 24 hrs. a 35º C
Caldo Nutritivo (Müller Hinton, peptonado, Soya tripticasa, Triptosa Fosfato)	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>	- Desarrollo. - Desarrollo	18 a 24 hrs. a 35º C
Caldo Tood Hewit (para Streptococcus)	- <i>Streptococcus pyogenes</i> * - <i>Streptococcus pneumoniae</i> *	-Desarrollo -Desarrollo	18 a 24 hrs. a 35º C

2.2 Caldos diferenciales:

<i>Medio</i>	<i>Cepa Control</i>	<i>Reacción Esperada</i>	<i>Incubación</i>
Caldo Base Fermentación Azúcares (Arabinosa 10 %)	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Enterococcus faecalis</i>	- Acidifica - No vira	18-24 hrs. a 35º C
Decarboxilasa Base Müller (Lisina - Arginina - Ornitina)	- <i>Salmonella Typhimurium</i> - <i>Proteus vulgaris</i>	-Decarboxilación positiva de: Lisina: color púrpura Arginina: Color púrpura Ornitina: Color púrpura -Decarboxilación negativa de: Lisina: color amarillo Arginina: Color amarillo Ornitina: Color amarillo	Hasta 4 días a 35º C (en anaerobiosis relativa)
Caldo Malonato de Sodio	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Reacción positiva: color azul -Reacción negativa: no vira	18-24 hrs. a 35º C
Caldo NaCl 6,5 % (con glucosa e indicador púrpura bromocresol)	- <i>Enterococcus faecalis</i> - <i>Streptococcus grupo viridans</i>	-Desarrollo y vira a amarillo - Sin desarrollo	18-24 hrs. a 35º C

2.3 Caldos de enriquecimiento:

<i>Medio</i>	<i>Cepa Control</i>	<i>Reacción Esperada</i>	<i>Incubación</i>
Agua Peptonada Alcalina	- <i>Vibrio cholerae no O1</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo en el subcultivo -Inhibición parcial en subcultivo	4 - 6 hrs. a 35º C

<i>Caldo Selenito F</i>	- <i>Salmonella Typhimurium</i> - <i>Shigella sonnei</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Desarrollo en subcultivo -Inhibición parcial en subcultivo -Inhibición parcial en subcultivo	12 hrs. a 35° C
-------------------------	--	---	-----------------

3. Otras pruebas:

<i>Prueba</i>	<i>Cepa control</i>	<i>Resultado Esperado</i>
Oxidasa	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Reacción positiva: color azul violeta -Reacción negativa: no vira
Catalasa	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus sp.</i>	-Reacción positiva: producción de burbujas -Reacción negativa: sin burbujas
Coagulasa	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i>	-Reacción positiva: formación de coagulo -Reacción negativa: sin cambio
Novobiocina	- <i>Staphylococcus saprophyticus</i> * - <i>Staphylococcus epidermidis</i>	-Resistente: zona inhibición <= a 15mm. -Sensible : zona inhibición > = a 16 mm.
Optoquina	- <i>Streptococcus pneumoniae</i> * - <i>Streptococcus grupo viridans</i>	-Zona de inhibición > = 14 mm. (de acuerdo al fabricante) -Sin Inhibición
Bacitracina	- <i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A) - <i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B)	-Zona de inhibición - Sin zona de inhibición
ONPG	- <i>Citrobacter freundii</i> - <i>Salmonella Typhimurium</i>	-Reacción positiva: color amarillo -Reacción negativa: no vira
Hipurato de Sodio (con Fe Cl ₃)	- <i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B) * - <i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)*	-Reacción positiva: precipitado amarillo anaranjado en 10 minutos -Reacción negativa: Sin precipitado



Rojo Metilo	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	-Reacción positiva: color rojo -Reacción negativa: color anaranjado
Voges- Proskauer	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Reacción positiva: color rojo -Reacción negativa : no vira
Reacción Indol	-- <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	-Reacción positiva: anillo rojo -Reacción negativa : anillo incoloro
Desaminación de Fenilalanina (Fe Cl ₃)	- <i>Proteus sp.</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Reacción positiva: color verde -Reacción negativa : no vira
β Lactamasa	- <i>Staphylococcus aureus</i> * - <i>Haemophilus influenzae</i> *	-Reacción positiva: cambio de color -Reacción negativa : no vira
Factores X - V	- <i>Haemophilus influenzae</i> *	-Crecimiento alrededor de los discos
Porfirina	- <i>Haemophilus parainfluenzae</i> - <i>Haemophilus influenzae</i>	-Reacción positiva: color rosado fluorescente -Reacción negativa: sin fluorescencia
Test de Camp	- <i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B) - <i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)	-Reacción positiva : hemólisis en punta de flecha -Reacción negativa: hemólisis sin punta de flecha
Tinción de Gram	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>	-Coloración violeta -Coloración rosada

*Cepa ATCC

4. Períodos recomendables para la mantención de medios de cultivo

4.1 Placas con medios de cultivo:

Medio	Refrigerador 4°C sin bolsa plástica	Refrigerador 4°C con bolsa plástica
Agar Sangre	15 días	50 días
Agar Chocolate	15 días	60 días
Agar Mac Conkey	15 días	70 días

Agar Saboureaud	21 días	90 días
Agar Manita Sal	21 días	60 días
Agar S- S	6 días	10 días

4.2 Caldos de cultivo:

Medio	Tapón no hermético 4°C Nº de semanas	Tapón no hermético Temperatura ambiente Nº de semanas	Tapón hermético bolsa plástica Temperatura ambiente Nº de meses	Sello de seguridad Temperatura ambiente Nº de meses
BHI	3-4	1-2	2-4	3-6
Soya Tripticasa	3-4	1-2	2-4	3-6
Selenito	3-4	1-2	2-4	3-6
Azúcares al 1 %	3-4	1-2	2-4	3-6

4.3 Tubos con agar:

Medio	Tapón no hermético 4°C Nº de semanas	Tapón no hermético Temperatura ambiente Nº de semanas	Tapón hermético bolsa plástica Temperatura ambiente Nº de meses	Sello de seguridad Temperatura ambiente Nº de meses
Agar Bilis Esculina	3-4	1-2	2-4	3-6
Agar LIA	3-4	1-2	2-4	3-6
Agar TSI	3-4	1-2	2-4	3-6



Agar MIO	3-4	1	2-4	3-6
Agar Müeller Hinton	3-4	1-2	2-4	3-6
Agar Nutritivo	3-4	1-2	2-4	3-6
Agar O- F	3-4	1-2	2-4	3-6
Agar Urea de Christensen	3-4	1-2	2-4	3-6

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 138 - 141	

X. BIBLIOGRAFIA

1. INS, Comité de Bioseguridad del. (2005). *Manual de bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos*. Recuperado el 25 de MAYO de 2023, de https://www.minsa.gob.pe/Recursos/OTRANS/08Proyectos/2021/PIM-SS-2021_norma-14.pdf
2. CARMEN GUERRERO GOMEZ, C. S. (2003). *PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGIA CLINICA*. Recuperado el 21 de MAYO de 2023, de <https://www.seimc.org/documentos-cientificos/procedimientos-microbiologia>
3. INSTITUTO DE ESTANDARIZACION EN LABORATORIO CLINICO DEL PERU. (2020). Recuperado el 28 de ABRIL de 2023, de <https://ielcdelperu.com/>
4. CONTRERAS, F. (ENERO de 2019). Recuperado el 30 de ABRIL de 2023 <https://eselavega-cundinamarca.gov.co/wp-content/uploads/2020/05/19.-SISTEMA-DE-GESTION-DE-LA-CALIDAD-DEL-LABORATORIO-CLINICO.pdf>
5. MICROBIOLOGIA MEDICA. (2020). Recuperado el 21 de ENERO de 2023, de <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1837>
6. ANAL -MIC-POES 005. (JULIO de 2021). Recuperado en ENERO de 2023, de <https://www.saludneuquen.gob.ar/wp-content/uploads/2021/08/ANAL-005-Microbiologia-general.pdf>
7. CLINICAL INFO HIV. GOV. (2011). Recuperado en JULIO de 2023, de <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/glossary/Glossary-Spanish-HIVinfo.pdf>
8. CLINICA UNIVERSIDAD DE NAVARRA. (s.f.). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://www.cun.es/diccionario-medico>
9. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. (1998). Recuperado en JUNIO de 2023, de <https://www.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
10. HOSPITAL GENERAL JAEN. (2022). *MAPA MICROBIOLOGICO*. JAEN. MAYO de 2023

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 139 - 141	

11. INSTITUTO NACIONAL DEL CANCER. (s.f.). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/frotis-de-sangre-periferica>
12. Campos, M. L. (2005). Control de la Calidad para un Laboratorio de Microbiología. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños*, 1 - 40. Recuperado en mayo de 2023, de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rmhnn/v40n1/3567.pdf>
13. Nelson Jorge Argeri, H. A. (1993). *Análisis de orina: fundamentos y práctica*. Edit. Médica Panamericana. Buenos Aires - Argentina
14. JAZMIN, R. (2011). *EXAMEN GENERAL DE ORINA FISICO Y QUIMICO*. Recuperado en ABRIL de 2023, de <https://es.scribd.com/doc/52630213/examen-general-de-orina-fisico-y-quimico>
15. GEAN, N. N. (2012). *ATLAS DE ORINA*. Recuperado en MAYO de 2023, de <https://es.scribd.com/document/80726133/Atlas-de-Orinas>
16. INTITUTO NACIONAL DE SALUD. (2014). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LOS PARASITOS INTESTINALES EN EL HOMBRE. *SERIE DE NORMAS TECNICAS 37*. Recuperado en MAYO de 2023, recuperado de https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/2014/serie_normas_tecnicas_nro_37.pdf
17. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNOSTICO DE MALARIA. SERIE N° 39. (2003). Recuperado en MAYO de 2023, de https://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/163_malaria.pdf
18. LABORATORIO CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA. COPROLOGICO FUNCIONAL. (ABRIL de 2019). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://www.citolab.com.pe/coprologico-funcional/#:~:text=El%20examen%20coprol%C3%B3gico%20funcional%20es,procesos%20inflamatorios%20intestinales%2C%20entre%20otros>
19. LEYDI, R. J. (2013). *EFFECTIVIDAD DEL TEST DEL ACIDO SULFOSALICILICO PARA DETERMINAR PROTEINURIA EN GESTANTES CON PRECLAMPSIA*

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 140 - 141	

- EN EL HOSPITAL III JOSE CAYETANO HEREDIA - PIURA. Recuperado en MAYO de 2023, de <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/412>
20. INSTITUTO NACIONAL DE SALIUD. MANAUL DE PROCEDIMIENTOS TECNICOS PARA EL DIAGNOSTICO MICOLOGICO. (2017). Recuperado el ABRIL de 2023, de <https://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4533.pdf>
 21. CHELSY, H. J. (2023). *TEST DE HELECHO*. Recuperado en mayo de 2023, de <https://es.scribd.com/presentation/691942729/tesde-helecho>
 22. GLADYS RESTOY CHANTEZ, J. C. (2006). *DIAGNOSTICO POR EXAMEN DIRECTO DE VAGINOSIS BACTERIANA*. Recuperado en MAYO de 2023, de <https://revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/318/html>
 23. MINISTERIO DE SALUD. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DE GONORREA. SERIE DE NORMAS TECNICAS N° 33. (2002). Recuperado en ABRIL de 2023, de <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/417620/275916003462493390520191106-32001-p2uyk2.pdf?v=1573077472>
 24. INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA ESCABIOSIS. (2002). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/543GRR.pdf>
 25. GUIA DE PROCEDIMIENTO DE EXAMEN DE TINTA CHINA. INSTITUTO NACIOANAL DEL NIÑO DE SAN BORJA. (2019). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://GP-032/INSN-SB/USDXT-PC/V.01> Página 1 de 7 Guía de Procedimiento de examen de Tinta China
 26. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DE LA BARTONELOSIS HUMANA. (2006). Recuperado en MAYO de 2003, de http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1285_INS79.pdf
 27. MINISTERIO DE SALUD. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS LABORATORIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LEISHMANIOSIS. SERIE DE NORMAS TECNICAS N° 13. (DICIEMBRE de 1997). Recuperado el SETIEMBRE de 2023, de <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/388533/manual-de-procedimientos-de-laboratorio-para-el-diagnostico-de-leishmaniasis.pdf>
 28. SOCIEDAD ARGENTINA DE UROLOGIA. (2020). CONSENSO ARGENTINO INTERSOCIEDADES DE INFECCIÓN URINARIA 2018-2019 - PARTE I.

	GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGIA CLINICA EN LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN			
	Versión: 001	Fecha: 24/05/2024	Páginas: 141 - 141	

MEDICINA. Recuperado en MAYO de 2023, de https://www.sau-net.org/publicaciones/lineamientos-diagnostico-tratamiento/consenso_ITU_2020.pdf

29. GEN LAB DEL PERU. I SEMINARIO INTERNACIONAL DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA. IMPACTO DE LA FASE PREANALITICA EN EL DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO. (01 de FEBRERO de 2024). Recuperado en MARZO de 2024, de https://www.youtube.com/watch?v=HkVL9-7B_b0&t=1080s
30. Manual practico de microbiologia clinica. (2011). Recuperado el 20 de JUNIO de 2023, de <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/librose/pva/Libros%20de%20PVA%20para%20libro%20digital/Manual%20de%20Bacteriologia.pdf>
31. IELC. I CURSO NACIONAL TEORICO PRACTICO EN ACTUALIZACION EN COPROCULTIVO. (JUNIO de 2022). Recuperado en MAYO de 2023, de <https://www.youtube.com/watch?v=wgrZLFOWfIE>.
32. CALLEJA, A. I. (2017). Recuperado el 21 de FEBRERO de 2023, de <https://es.scribd.com/document/425366804/Documentos-Manual-Toma-de-Muestras>
33. VERA, M. Y. (MARZO de 2009). Recuperado el ENERO de 2023, de <https://www.ispch.cl/sites/default/files/PR%20CCI%20Bacteriolog%C3%ADa.pdf>