

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

MANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Laboratorio de Análisis Clínicos FCQ.UACH

	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Nombre	Q.B.P. David Quiroz Cardoza	M.A. Carmen Alicia Murillo Nevárez	M.A. Oscar René Valdez Domínguez
Puesto	Departamento de Microbiología	Coordinador de Técnico	Director del Laboratorio
Fecha	11 de Enero 2018	11 de Enero 2018	11 de Enero 2018
Firma			

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación:
		MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación:
		11/Enero/2018
		Fecha actualización:
		13/Mayo/2019

CONTENIDO

ANÁLISIS DE SEMEN	3
BAAR EN EXPECTORACIÓN.....	19
BAAR EN ORINA.....	26
CULTIVO DE ESPERMA (ESPERMOCULTIVO).....	33
CULTIVO DE EXUDADO FARINGEO.....	40
CULTIVO DE HECES (COPROCULTIVO)	45
CULTIVO DE HERIDAS Y SECRECIONES.....	51
CULTIVO DE ORINA (UROCULTIVO)	57
CULTIVO NASAL.....	64
CULTIVO URETRAL (EXUDADO URETRAL)	77
CULTIVO VAGINAL.....	84
APÉNDICE 1: TINCIÓN DE GRAM.....	91
APENDICE 2: MÉTODO DE ESTRIADO PARA AISLAMIENTO	97
APENDICE 3: MÉTODO DE ESTRÍA CERRADA PARA CUANTIFICACIÓN	101
APENDICE 4. ANTIBIOGRAMA	105
APENDICE 5: PRUEBAS BIOQUIMICAS	110
APÉNDICE 6: TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN	128
APÉNDICE 7: TINCIÓN DIFF QUICK.....	133
HISTORIAL DE REVISIONES	136

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

ANÁLISIS DE SEMEN	
Propósito del examen	Determinar el estado de fertilidad del paciente mediante el examen de su semen, determinando la morfología y fisiología de los espermatozoides así como la cantidad, también el examen es útil para ayuda de diagnóstico de ciertas patologías y como control en la vasectomía.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	El aparato reproductor masculino está formado por varios órganos que según su función se podrían clasificar en cuatro grupos: • Dos testículos: tienen una doble función, por una parte producen los espermatozoides mediante un proceso llamado espermatogénesis y por otra ejercen una importante regulación endocrina, tanto a nivel reproductor como sobre otros órganos y funciones de nuestro cuerpo. • Las vías seminales, que también son dobles hasta su conexión con la próstata donde transportan los espermatozoides a lo largo del sistema reproductor. • Las glándulas accesorias aportan una serie de sustancias vitales para la función reproductora porque forman el líquido seminal y además tienen una función nutritiva o reguladora. • El pene deposita el semen en la vagina. El espermatozoide maduro es una célula altamente diferenciada. Está formado por: • Cabeza, que contiene el núcleo y aporta la información genética. La cabeza del espermatozoide es de forma oval al observarla frontalmente y piriforme cuando la observación es lateral, siendo más gruesa en la base y adelgazando hacia la punta. Su tamaño aproximado oscila entre 3.7 y 4.7 micras de longitud y 2.5 a 3.2 micras de anchura, por 1 a 1.5 micras de espesor. La razón longitud/anchura varía entre 1.3 y 1.8. En la cabeza del



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

espermatozoide se sitúan el núcleo y el acrosoma, recubiertos ambos por la membrana plasmática.

- Cuello, que contiene las mitocondrias y es la fuente de energía. El cuello es la unión entre la cabeza y el flagelo y es una zona compleja y de gran importancia, que soporta algunas estructuras esenciales.
- Flagelo, que proporciona la movilidad necesaria para el traslado al lugar de fecundación y asegura la adecuada orientación de la cabeza para penetrar las cubiertas del ovocito. El flagelo es una larga estructura filiforme de aproximadamente 50 μm de longitud. Está recubierto por una vaina fibrosa en su primera fracción y luego solo por la membrana flagelar.

La movilidad es uno de los parámetros más importantes en la evaluación de una muestra de semen. Un espermatozoide inmóvil es incapaz de atravesar el moco cervical femenino y mucho menos las envolturas del ovocito.

El semen normal es una combinación de espermatozoides suspendidos en las secreciones de los testículos y epidídimos y las secreciones de la próstata, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales que se mezclan en el momento de la eyaculación. El producto final es un líquido viscoso llamado eyaculado.

Por lo tanto el semen tiene dos grandes atributos cuantificables:

- El número total de espermatozoides, que reflejan la producción de espermatozoides por los testículos y la permeabilidad del sistema de conductos post-testiculares.
- El volumen total de fluidos generados por varias glándulas accesorias, reflejando la función de la actividad secretora de las glándulas.

La característica de los espermatozoides y la composición de los fluidos seminales son ambos importantes para la función del espermatozoide. El análisis de semen provee información esencial sobre el estado clínico y la capacidad fertilizante del individuo.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA		Identificación: MAN-MIC-01
			Versión: 1
			Fecha creación: 11/Enero/2018
			Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	El problema de la esterilidad e infertilidad en las parejas hoy día está poniendo en riesgo la capacidad de reemplazo generacional en Europa. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor del 10 al 15% de las parejas en edad de procrear consultan al médico por problemas de esterilidad, habitualmente después de unos dos años de no lograr concebir; de hecho, se calcula que hay alrededor de 60-80 millones de parejas estériles en el mundo. Es por ello que la demanda de evaluación y tratamiento por esterilidad e infertilidad ha aumentado drásticamente.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	- Semen Indicaciones al paciente: - El paciente debe mantener abstinencia de relaciones sexuales por un mínimo de 2 días y un máximo de 7 días antes de realizar el estudio. Obtener la muestra exclusivamente por masturbación y recolectar el semen en un recipiente estéril proporcionado por el laboratorio. Entregar la muestra al laboratorio lo más pronto posible de 8 a 10 a.m. indicar la hora de la recolección de la muestra y si hubo alguna pérdida de la misma, de ser posible tomar la muestra en el baño del laboratorio, o bien no exceder más de 20 min. de la toma de muestra. En el transporte evitar que la muestra se exponga a temperaturas extremas, mantenerla a una temperatura entre 20 a 37°C.
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: - Incubadora - Mechero de Bunsen - Microscopio



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	• Tarja para tinciones • Encendedor • Tubos de ensaye estériles • Portaobjetos y cubreobjetos • Micropipeta y puntillas • Cámara de Neubauer • Jeringa Reactivos: • Tinción de Diff Quick • Tinción de Gram • Solución salina fisiológica • Buffer de fosfatos • Eosina Y al 2% en solución salina fisiológica • Aceite de inmersión • Tiras de pH
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Las laminillas se descartan en un contenedor con una solución de cloro al 5% para inactivar la muestra. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Examen macroscópico inicial: 1. Inspeccionar la muestra inmediatamente después de la licuefacción preferentemente a los 30 min, pero no más de una



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

hora después de la eyaculación, para prevenir la deshidratación o cambios en la temperatura que afecte la calidad del semen, por lo que se recomienda que en cuanto la muestra se entregue al laboratorio esta se coloque en la incubadora a 37°C.

Licuefacción:

2. Observar y anotar el tiempo de licuefacción de la muestra.
3. Después de la eyaculación el semen se empieza a licuar en los siguientes minutos observándose una textura más homogénea del semen y se vuelve más líquido con pequeñas áreas del remanente del coágulo. La completa licuefacción de la muestra normalmente ocurre dentro de los primeros 15 min, pero en ciertas ocasiones puede durar hasta 60 min o más, si esto ocurre se debe reportar en los resultados. Las muestras que se colectan en casa o con condón normalmente la licuefacción es completa al momento de llegar al laboratorio.
4. No proceder al análisis si la licuefacción no es completa, se debe esperar más tiempo, pudiendo ayudar a la licuefacción de la muestra agitando ligeramente la muestra y colocándola a temperatura de 37°C.
5. Proceder a un tratamiento adicional en caso de que la muestra no se licue después de 60 min, como el mezclado mecánico o agregar un volumen igual a la muestra de solución fisiológica como: buffer de fosfatos o solución salina atemperados, seguido de un repetido pipeteo de la muestra.

Viscosidad:

6. Estimar la viscosidad aspirando suavemente el semen después de su licuefacción, con una pipeta de plástico de diámetro ancho (aproximadamente 1.5 mm de diámetro), se deja caer el semen de manera que gotee y así poder observar la viscosidad y la formación de hebras.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

7. Una muestra normal cae como pequeñas gotas bien definidas, en una muestra anormal la gota forma hebras de más de 2 cm de largo

Apariencia del eyaculado:

8. Observar la apariencia después de la licuefacción, una muestra normal presenta una forma homogénea de color gris opalescente. Puede presentarse menos opacidad si la muestra tiene muy baja concentración y el color puede ser diferente de acuerdo a cierta patología o el uso de algunos medicamentos.

Volumen de semen:

9. Medir el volumen del semen pesando la muestra y calculando el volumen asumiendo que la densidad del semen es de 1 g/ml.
10. Se recomienda pesar el recipiente antes de coleccionar la muestra y pesarlo con la muestra para así obtener el peso exacto del semen. Una alternativa para medir el volumen del semen puede ser la medición directa con una tubo de vidrio graduado de boca ancha con graduaciones de 0.1 ml y observando el volumen de la muestra. La medición directa no se recomienda debido a que por las características de la muestra se queda muestra en el recipiente de colección, desestimando alrededor de 0.3 a 0.9 ml de la muestra
11. El límite inferior del valor de referencia del volumen de semen es de 1.5 ml (5to percentil, 95% IC 1.4 – 1.7).

pH del semen:

12. Medir el pH después de la licuefacción a un tiempo uniforme de 30 min después de la eyaculación pero en ningún caso dentro de 1 hora ya que influye la pérdida de CO₂.
13. Mezclar bien la muestra y con una gota impregnar la tira de papel pH.
14. Observar el pH que indica la tira y anotar el resultado.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Los límites de referencia son: pH = 7.2 como límite menor.

Investigación microscópica:

15. Mezclar completamente la muestra antes de tomar la alícuota necesaria para el estudio. No se debe mezclar vigorosamente la muestra, se puede realizar mediante la aspiración de la muestra con una pipeta de plástico de boca ancha, realizando esto alrededor de 10 veces.

Preparación húmeda:

16. Tomar una alícuota inmediatamente después de mezclar de 10 μ l y se coloca en un portaobjetos a temperatura de 37°C

17. Esperar 1 min después de la preparación húmeda para realizar la lectura y se deben de observar alrededor de 200 espermatozoides para la evaluación, evaluando la zona de en medio de la preparación (no en las orillas).

18. Observar la preparación en el microscopio en búsqueda de:

- Agregación de espermatozoides.
- Adherencia no específica ya sea de espermatozoides, con filamentos de moco, con células o con detritos de la muestra que afectan la movilidad.
- Aglutinación de espermatozoides.
- Adherencia específica de espermatozoide con espermatozoide y puede ser cabeza con cabeza, cola con cola o una mezcla de los dos, afectando la movilidad de los espermatozoides.
- Elementos celulares diferentes a espermatozoides.
- Puede incluir células epiteliales, leucocitos, eritrocitos, celular germinales inmaduras o parásitos flagelados.

19. Evaluar la movilidad de la siguiente manera:

Movilidad progresiva: movimiento activo, en forma lineal o en grandes círculos, independientemente de la velocidad.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Movilidad no progresiva: ausencia de progresión, en forma de pequeños círculos, la fuerza flagelar apenas desplaza la cabeza o cuando únicamente se observan los movimientos flagelares.

Inmóviles: cuando no tienen movimiento.

Los valores de referencia son:

El límite inferior para la suma de movilidad progresiva y no progresiva es de 40%

El límite inferior para la movilidad progresiva es del 32%

Vitalidad:

20. Realizar una dilución 1:1 de la muestra con eosina Y al 2% en solución salina fisiológica, mezclando bien antes de tomar la muestra y colocar una gota (10 µl aprox.) en un portaobjetos y colocar un cubreobjetos.

21. Examinar la laminilla y realizar el conteo de por lo menos 200 espermatozoides evaluando si se encuentran muertos (teñidos) o vivos (sin teñir), calculando el porcentaje de vitalidad de la muestra.

Los límites de referencia son: el límite inferior de porcentaje de vitalidad es de 58%.

Nota: el número total de espermatozoides vivos (con la membrana intacta, sin teñir) es de importancia clínica. Esto se calcula multiplicando el número total de espermatozoides por el porcentaje de vitalidad y se puede reportar en los resultados.

Conteo de espermatozoides:

22. Determinar la dilución que se va a utilizar, esto se determina cuando se realiza el análisis de la movilidad, en esa misma preparación se realiza un conteo previo para determinar la dilución, como se muestra a continuación:

Espermatozoides por campo objetivo de 40X	Dilución requerida µl semen + µl fijador	Cuadrícula analizada
>101	1:20 (50+950)	5, 4, 6
16-100	1:5 (50+200)	5, 4, 6



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
 11/Enero/2018

Fecha actualización:
 13/Mayo/2019

2-15	1:2 (50+50)	5, 4, 6
<2	1:2 (50+50)	Las 9

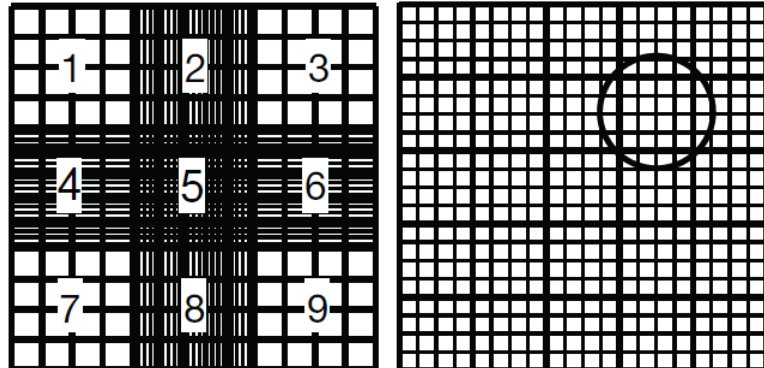
23. Realizar la dilución del semen, mezclando bien la muestra y tomando la alícuota necesaria para la dilución determinada, se limpia la puntilla de la pipeta por fuera para evitar que se agregue más muestra de lo realmente se tomó en la puntilla. En otro tubo de ensaye limpio se coloca el fijador necesario y se agrega la muestra de semen mezclando con la misma pipeta absorbiendo varias veces la dilución para mezclarlo perfectamente.
24. Colocar adecuadamente el cubreobjetos de la cámara sobre la misma.
25. Mezclar bien la dilución preparada previamente y tomar inmediatamente una alícuota de 10 μ l de la dilución y con la punta de la pipeta se toca el borde inferior de una de las dos cámaras en la muesca con forma de V y se empieza a soltar la muestra de la pipeta muy despacio para empezar a llenar la cámara por capilaridad, el cubreobjetos no se debe de mover durante el llenado y no se debe de sobrellenar la cámara (cuando el cubreobjetos se empieza a mover) ni tampoco le debe faltar muestra (cuando se observan burbujas debajo del cubreobjetos).
26. Colocar la cámara de Neubauer horizontalmente en una cámara húmeda (caja Petri con una gasa o papel filtro impregnado con agua) durante 4 min a temperatura ambiente.
27. Realizar el conteo de los espermatozoides en la cámara que presenta el siguiente esquema donde se observan los 9 cuadrantes de la cámara (fig. de la izquierda) y el cuadrante central que corresponde al número 5 (fig. de la derecha) y que se divide en 25 cuadros (cuadro encerrado en el círculo) y que a su vez estos se dividen en 16 cuadros más pequeños.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019



28. Realizar el conteo primero en el cuadrante 5 y si es necesario se deben utilizar los cuadrantes 4 y 6. Se deben contar por lo menos 200 espermatozoides y se deben de contar por filas contando la fila por completo aunque a mitad de una fila ya se hayan contado los 200 espermatozoides se debe de terminar de contar esa fila. En el caso de que no se logre contar los 200 espermatozoides en los cuadrantes 4, 5 y 6 se deben preparar una nueva dilución que permita el conteo de los 200 espermatozoides en estos cuadrantes. Los espermatozoides se deben contar completos, con cabeza y cola, pero el conteo depende de la localización de la cabeza sin importar la posición de la cola. El límite de los 25 cuadros del cuadrante 5 está determinado por 3 líneas delgadas y el verdadero límite del cuadro es la línea central de cada uno de estos cuadros, por lo tanto se cuentan los espermatozoides que tengan la mayoría de la cabeza dentro de las 2 líneas interiores, si la cabeza se encuentra en la mitad de la línea central solo se contabiliza si se encuentra en la línea inferior o izquierda del cuadro, si se encuentra en la línea superior o derecha no se contabiliza el espermatozoide.

29. Calcular la concentración de espermatozoides y el total de espermatozoides por eyaculado de la siguiente manera:

La concentración se calcula con la siguiente fórmula:

$$C = (N/n) \times (1/20) \times \text{factor de dilución} = X \text{ espermatozoides/nl ó } 10^6/\text{ml}$$

Donde N = número de espermatozoides contados

n = número de filas contadas

1/20 = es el volumen por fila que es de 20 nl = 0.05



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

El límite inferior de referencia de la concentración de espermatozoides es de: 15×10^6 espermatozoides/ml de semen

El número total de espermatozoides por eyaculado se calcula multiplicando la concentración de espermatozoides por el volumen del eyaculado.

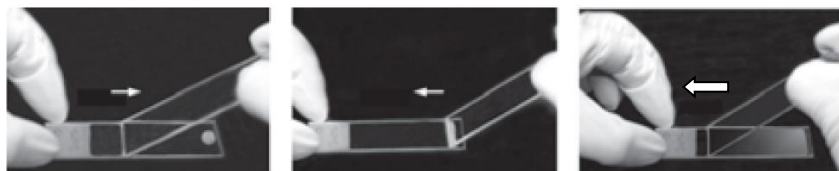
El límite inferior de referencia del número total de espermatozoides por eyaculado es de:

39×10^6 espermatozoides/por eyaculado

Morfología:

30. Mezclar bien la muestra como en los procedimientos anteriores y se toma inmediatamente una alícuota

31. Colocar una gota ($10 \mu\text{l}$) de la muestra en un extremo de un portaobjetos y con la orilla de otro portaobjetos se extiende la muestra en toda la superficie del portaobjetos como se muestra a continuación:



Si la muestra contiene una concentración baja de espermatozoides ($<2 \times 10^6/\text{ml}$), primero se centrifuga a $600g$ por 10 min. , luego se retira el sobrenadante y se resuspende el sedimento con el poco de sobrenadante utilizando una pipeta de transferencia y después se realiza el extendido como en el paso anterior.

Dejar secar el extendido al aire libre, esto se realiza por duplicado y un extendido se tiñe con Diff Quick (**Apéndice 7**) y el otro con Gram (**Apéndice 1**).

32. Examinar la laminilla con el objetivo de $100X$ y con aceite de inmersión, se deben evaluar todos los espermatozoides de cada campo, contando por lo menos 200 espermatozoides y solo se contabilizan los espermatozoides íntegros.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

33. Reportar el resultado en porcentaje de los espermatozoides normales y anormales

De acuerdo a un gran número de dificultades para evaluar la morfología del espermatozoide relacionada con la falta de objetividad y variación en la interpretación o poco desempeño del revisor, el método que se utiliza en este manual es una simple clasificación de espermatozoides normales y anormales, y con opción de reporte del lugar de las anomalías de los espermatozoides anormales.

Para determinar la anomalía sabemos que el espermatozoide se compone de cabeza, pieza media (cuello) y cola.

La cabeza debe ser lisa y regularmente contorneada y debe tener una forma oval, debe tener una longitud entre 4.0-5.0 μm y un ancho de 2.5-3.5 μm y el coeficiente largo/ancho debe ser de 1.5 a 1.75. Debe haber una región acrosomal claramente definida que comprende entre el 40 al 70% de la cabeza, esta región no debe contener más de 2 vacuolas pequeñas y no deben contener vacuolas muy grandes (no deben ocupar más del 20% de la cabeza). La región post-acrosomal no debe contener ninguna vacuola.

La pieza media debe de ser delgada, regular y aproximadamente debe tener la misma longitud de la cabeza, el eje mayor de la pieza media debe de estar alineado con el eje de la cabeza. El citoplasma residual es considerado anormal solo si excede un tercio del tamaño de la cabeza.

La cola debe tener un calibre uniforme a todo lo largo, debe ser más delgada que la pieza media y debe medir aproximadamente 45 μm de largo (alrededor de 10 veces el tamaño de la cabeza). Puede ser contorneado siempre que no tenga un ángulo muy cerrado que indique una rotura de la cola.

En la siguiente imagen se muestran algunas de las anomalías de los espermatozoides.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

	A. Head defects (a) Tapered (b) Pyriform (c) Round (d) Amorphous (e) Vacuolated (f) Small acrosomal area (c) Round: No acrosome, Small B. Neck and midpiece defects (g) Bent neck (h) Asymmetrical (i) Thick insertion (j) Thin C. Tail defects (k) Short (l) Bent (m) Coiled D. Excess residual cytoplasm (n) >1/3rd head El límite de referencia inferior para el porcentaje de espermatozoides normales es de: 4% 34. Evaluar los leucocitos utilizando la tinción de Diff Quick o de Gram, se examina la laminilla con el objetivo de 100X y con aceite de inmersión. Se realiza el conteo de los leucocitos por campo observado y se reportan de la misma manera. 35. Observar en la tinción de Gram con el objetivo de 100X y con aceite de inmersión, la presencia de bacterias y el tipo de Gram, así como la presencia de levaduras o hifas.
Procedimientos de control de calidad	Antes de utilizar cualquier reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos preparados y/o recibidos por proveedores. Al realizar el conteo de los espermias, así como de la preparación húmeda y la morfología se realizan por duplicado.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica

- **Licuefacción:**
Se reporta como: completa o incompleta y se debe reportar el tiempo de la licuefacción y si es necesaria la ayuda de la licuefacción después de 60 min se debe reportar en los resultados
- **Viscosidad:**
Se reporta como: Normal o Anormal
- **Apariencia:**
Se reporta el color, la opacidad y si la muestra es homogénea o heterogénea
- **Volumen:**
Se reporta en unidades de ml
- **pH:**
Se reporta de acuerdo a la escala de pH.
- **Agregación y Aglutinación de espermatozoides:**
Se reporta como: Escasos, Moderados o Abundantes (escasos <10, moderados 10-50 y abundantes >50).
- **Elementos celulares diferentes a los espermias (Leucocitos, Eritrocitos, Trichomonas, Células epiteliales):**
Se reportan el numero observado por campo
- **Movilidad:**
Se reporta en porcentaje la movilidad progresiva, movilidad no progresiva y los inmóviles
- **Vitalidad:**
Se reporta en porcentaje
- **Conteo de espermatozoides:**
Se reporta el número de espermatozoides contados por mL de semen. Y el total se reporta el total de espermatozoides por eyaculado.
- **Morfología:**
Se reporta en porcentaje de normales y anormales, en los anormales además se reporta el porcentaje de los diferentes tipos de anormalidades que se presentan.
- **Bacterias:**

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Se reporta como: Escasas, Moderadas o Abundantes. Además de reportar la morfología y el tipo de Gram.
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Si los resultados de un paciente se encuentran dentro de los valores de referencia se considera una persona sana y en condiciones de procrear. En caso de presentar valores anormales en alguno de los parámetros del examen se debe realizar estudios subsecuentes especializados para poder demostrar una anomalía en el sistema reproductor del paciente y dar un diagnóstico definitivo en términos de fertilidad.
Fuentes potenciales de variación	El tiempo de entrega de la muestra al laboratorio y las condiciones del transporte de la muestra pueden ser una fuente de variabilidad. El tiempo de abstinencia sexual puede ser una variante para los parámetros de cuantificación y morfología de los espermatozoides.
Referencias	Organización mundial de la salud.



MANUAL

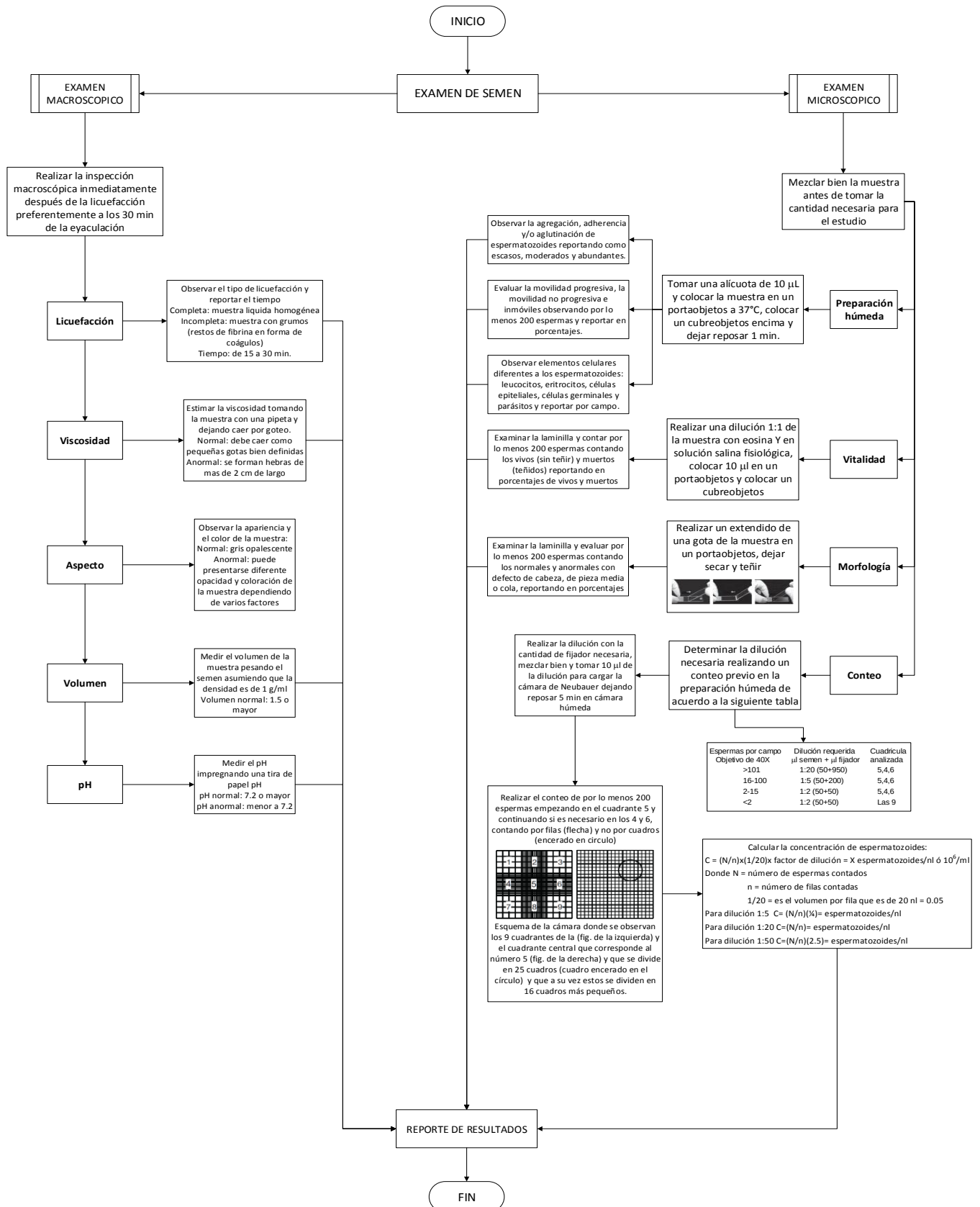
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

BAAR EN EXPECTORACIÓN	
Propósito del examen	Identificar las bacterias ácido-alcohol resistente causantes de infecciones en las vías respiratorias bajas y de tuberculosis pulmonar.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Se estima que alrededor de un tercio de la población mundial, están infectadas con <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, bacilo causante de la tuberculosis. La transmisión de los bacilos de la tuberculosis se produce casi exclusivamente por medio de núcleos suspendidos en pequeñas gotas que son expulsadas con la expectoración de las personas afectadas. Estas pequeñas gotas pueden permanecer infectantes en el aire durante bastante tiempo y pueden ser inhaladas por otras personas. No todas las personas infectadas se enferman, sólo una de cada diez aproximadamente, que son las más susceptibles. La tuberculosis puede manifestarse en cualquier órgano, porque <i>M. tuberculosis</i> se disemina por todo el organismo; sin embargo, la enfermedad pulmonar es la más frecuente (80-85% de todos los casos diagnosticados) debido a que el bacilo necesita abundante oxígeno para multiplicarse. En los pulmones de los enfermos se pueden formar cavidades en las que se alojan grandes poblaciones de bacilos que pueden ser detectados en muestras de esputos. Los síntomas más característicos de la tuberculosis pulmonar son la tos y la expectoración persistentes por más de 2 semanas. A las personas con estos síntomas se los llama Sintomáticos Respiratorios (SR). Otras manifestaciones pueden ser pérdida de peso, febrícula, sudores nocturnos, cansancio físico y dolores de tórax. El diagnóstico de certeza de tuberculosis puede hacerse en forma confiable en el laboratorio demostrando la presencia de bacilos en una muestra de la lesión por medio de la baciloscopia (examen microscópico) o el cultivo.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Para que la baciloscopia sea positiva es preciso que la muestra tenga como mínimo, entre 5.000 y 10.000 bacilos por mililitro de muestra. Este alto contenido de bacilos se encuentra en los pacientes con tuberculosis pulmonar, especialmente en aquellos con enfermedad avanzada y con lesiones cavitadas. La baciloscopia es la técnica de elección para el diagnóstico rápido y el control del tratamiento de la tuberculosis pulmonar del adulto. Es simple, económica y eficiente para detectar los casos infecciosos. La identificación de los casos infecciosos es el principio de solución del problema para los enfermos y, fundamentalmente, para este problema de salud pública. Como la eliminación de los bacilos por el esputo no es constante, es conveniente analizar más de una muestra para el diagnóstico de la tuberculosis. La primera muestra puede detectar aproximadamente el 80% de los casos positivos, la segunda un 15% y la tercera un 5%.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Expectoración
Preparación de paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Encendedor • Portaobjetos • Hisopos estériles • Aplicadores de madera • Campana de extracción Reactivos: • Tinción de Ziehl-Neelsen

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	○ Fuscina fenicada ○ Alcohol-acido ○ Azul de metileno
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o aplicadores utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja así como el recipiente donde se recolecto la muestra Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Los guantes y el cubre bocas se consideran altamente contagiosos por lo que se deben descartar en bolsa roja Cualquier derrame de muestra debe de limpiarse con fenol al 5% El área de trabajo debe desinfectarse con fenol al 5% o Hipoclorito de sodio al 5%. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: Recolección de las muestras: 1. Elegir un lugar bien ventilado y que ofrezca privacidad. 2. Entregar al paciente el recipiente para la recolección. 3. Solicitar al paciente una buena muestra de esputo pudiendo utilizar la palabra que lo identifica en cada región (gallo, pollo, gargajo, del fondo del pecho, etc.) instruyéndolo como a continuación se explica: a. Inspirar aire llenando los pulmones tanto como sea posible. b. Retener el aire un momento. c. Expulsar luego la expectoración con un esfuerzo de tos, tratando de arrastrar las secreciones del pulmón.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

- d. Recoger el esputo producido dentro del envase tratando de que entre en su totalidad, sin manchar sus manos o las paredes externas del frasco.
- e. Repetir esta operación otras dos veces colocando todas las secreciones en el mismo frasco.
- f. Limpiar el exterior del envase con un pañuelo de papel.

Una buena muestra tiene aproximadamente 3 a 5 mL, es generalmente espesa y mucoide. Puede ser fluida con partículas de material purulento.

Preparación de la laminilla:

4. Revisar la muestra con un aplicador para seleccionar la partícula más purulenta y densa.
5. Enrolla en el aplicador de madera y después se coloca en un portaobjetos y se extiende con el mismo aplicador con movimientos suaves, circulares, tratando de dispersar en forma homogénea formando un ovalo de 2 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho.
6. Verifica el extendido revisando que sea homogéneo y de un grosor adecuado (ni muy delgado, ni muy grueso).
7. Dejar secar el extendido a temperatura ambiente.
8. Fijar con calor pasando el extendido por la flama del mechero rápidamente de tres a cuatro veces.
9. Realizar la tinción de Ziehl-Neelsen (**Apéndice 6**).

Lectura e identificación:

10. Observar la laminilla al microscopio con el objetivo de 100X utilizando aceite de inmersión.
11. Revisar la laminilla en forma de línea recta de un extremo a otro para revisar toda la laminilla sin repetir ningún campo.

Los BAAR se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, de color rojo fucsia y de 1-10 μm de largo.

El número total de campos a revisar depende de si se encuentran bacilos y en qué cantidad, como a continuación se explica:



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
 11/Enero/2018

Fecha actualización:
 13/Mayo/2019

	<table><tr><th>BAAR encontrados</th><th>No. Mínimo de campos a revisar</th></tr><tr><td>Ninguno</td><td>300</td></tr><tr><td>Menos de 1 por campo</td><td>100</td></tr><tr><td>De 1 a 10 por campo</td><td>50</td></tr><tr><td>Más de 10 por campo</td><td>20</td></tr><tr><td>De 1 a 4 en todo el extendido</td><td>200</td></tr></table>		BAAR encontrados	No. Mínimo de campos a revisar	Ninguno	300	Menos de 1 por campo	100	De 1 a 10 por campo	50	Más de 10 por campo	20	De 1 a 4 en todo el extendido	200
	BAAR encontrados	No. Mínimo de campos a revisar												
	Ninguno	300												
	Menos de 1 por campo	100												
	De 1 a 10 por campo	50												
	Más de 10 por campo	20												
	De 1 a 4 en todo el extendido	200												
Procedimientos a seguir frente al hallazgo de menos de 5 BAAR en 100 campos observados debido a la posibilidad de que se trate de artefactos de coloración, se recomienda: 12. Ampliar la lectura a 200 campos. Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra, tratando de elegir partículas purulentas. Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado anterior de la muestra debe informarse con el número exacto de BAAR observados.														
Procedimientos de control de calidad	El equipo, materiales y reactivos de laboratorio de microbiología es verificado con determinada frecuencia con el fin de verificar su funcionamiento adecuado.													
Interferencias	No aplica													
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	Calculo de BAAR: Calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, sumando el total de BAAR contados y se divide entre el número de campos observados Promedio de BAAR = (Total de BAAR contados) / (# de campos observados)													
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Resultados de examen microscópico	Informe de resultados												
	No se encuentran BAAR en los 300 campos observados	Negativo (-)												

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Se observa menos de 1 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
	Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
	Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica	
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica	
Valores de alerta o críticos	No aplica	
Interpretación clínica del Laboratorio	Cualquier resultado positivo es indicativo de una infección por micobacterias, muy seguramente por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, sin embargo este diagnóstico debe ser asignado por el Médico tratante. En caso de un resultado negativo el diagnóstico de tuberculosis no se descarta hasta revisar todas las muestras seriadas de la expectoración del paciente, con especial atención si presenta sintomatología. Se recomienda realizar estudios confirmatorios para descartar el diagnóstico de tuberculosis.	
Fuentes potenciales de variación	Las muestras mal colectadas, no representativas de la lesión, de cantidad insuficiente, mal conservadas y transportadas son fuentes de variabilidad, dando resultados falsos negativos. La mala selección de la partícula purulenta, defectos en la realización de extendido, en la coloración, en la lectura, así como confusiones de muestras y extendidos también son fuentes de variabilidad, dando resultados tanto falsos positivos como falsos negativos.	

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Referencias	Manual para el diagnóstico de la tuberculosis. Organización Panamericana de la Salud. (2008). Sequeira María, Barrera Lucia y colaboradores. http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/782
--------------------	--

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

BAAR EN ORINA	
Propósito del examen	Identificar las bacterias ácido-alcohol resistente causantes de infecciones en las vías urinarias, causantes de tuberculosis renal.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Se estima que alrededor de un tercio de la población mundial, están infectadas con Mycobacterium tuberculosis, bacilo causante de la tuberculosis. La transmisión de los bacilos de la tuberculosis se produce casi exclusivamente por medio de núcleos suspendidos en pequeñas gotas que son expulsadas con la expectoración de las personas afectadas. Estas pequeñas gotas pueden permanecer infectantes en el aire durante bastante tiempo y pueden ser inhaladas por otras personas. No todas las personas infectadas se enferman, sólo una de cada diez aproximadamente, que son las más susceptibles. La tuberculosis puede manifestarse en cualquier órgano, porque M. tuberculosis se disemina por todo el organismo; sin embargo, la enfermedad pulmonar es la más frecuente (80-85% de todos los casos diagnosticados) debido a que el bacilo necesita abundante oxígeno para multiplicarse. El 20% de los pacientes con tuberculosis pulmonar desarrollan manifestaciones extrapulmonares, el riesgo de afectación de genitourinaria es del 3 al 8%, siendo la forma extrapulmonar más común de la enfermedad. M tuberculosis es el responsable del 99% de los casos de tuberculosis urogenital. La infección urogenital comienza con la primoinfección de tuberculosis pulmonar donde los bacilos son fagocitados por macrófagos causando respuesta celular donde son llevados a los ganglios, donde el complejo ganglio-pulmonar en un tiempo de 2 a 3 meses evoluciona a caseificación produciendo la curación espontánea, en este proceso la mayoría de los bacilos son destruidos, pero algunos pueden permanecer inactivos y viables por mucho tiempo, siendo capaces de reactivarse en

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	circunstancias de latencia o inmunosupresión. De forma tardía aunque puede coincidir con la primoinfección puede ocurrir una liberación de bacilos conduciéndose por vía hematógica hasta la corteza renal de forma bilateral ocasionando la afectación urogenital. El diagnóstico de certeza de tuberculosis puede hacerse en forma confiable en el laboratorio demostrando la presencia de bacilos en una muestra de la lesión por medio de la baciloscopia (examen microscópico) o el cultivo. La baciloscopia es la técnica de elección para el diagnóstico rápido. Es simple, económica y eficiente para detectar los casos infecciosos. La identificación de los casos infecciosos es el principio de solución del problema para los enfermos y, fundamentalmente, para este problema de salud pública.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	• Orina
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Encendedor • Portaobjetos • Tubos cónicos • Campana de extracción • Centrifuga Reactivos: • Tinción de Ziehl-Neelsen ○ Fuscina fenicada ○ Alcohol-acido

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	○ Azul de metileno • Aceite de inmersión
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. El recipiente donde se recolecto la muestra se debe descartar en bolsa roja. La orina es considerada altamente contagiosa por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Los guantes y el cubre bocas se consideran altamente contagiosos por lo que se deben descartar en bolsa roja Cualquier derrame de muestra debe de limpiarse con fenol al 5% El área de trabajo debe desinfectarse con fenol al 5% o Hipoclorito de sodio al 5%. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Entregar al paciente el recipiente estéril para la recolección. 2. Solicitar al paciente una muestra de orina siendo esta la primera de la mañana, descartando el primer chorro de orina. Antes de la recolección el paciente debe de realizar higiene de los genitales externos con agua. Debe de recoger por lo menos 50 mL de orina y remitirla inmediatamente al laboratorio para ser procesada en un lapso no mayor a 2 hrs y si es posible mantener la muestra en refrigeración de 2-8°C. 3. Conservación: la muestra debe ser procesada inmediatamente porque el pH ácido afecta la viabilidad del bacilo. Si se debe transportar desde otro laboratorio, se recomienda enviar el sedimento de toda la orina centrifugada durante 15 minutos a 3.000g, neutralizado con 1 mg de bicarbonato de sodio o fosfato trisódico anhidro y, si es necesario, conservado entre 4 y 9 ° C por no más de 12 horas hasta el momento del envío.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Preparación de la laminilla:

4. Colocar la muestra en un tubo cónico y centrifugar durante 15 min a 3000g.
5. Decantar el sobrenadante de la orina y con un aplicador de madera se toma el sedimento y después se coloca en un portaobjetos y se extiende con el mismo aplicador con movimientos suaves, circulares, tratando de dispersar en forma homogénea formando un ovalo de 2 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho.
6. Verificar el extendido revisando que sea homogéneo y de un grosor adecuado (ni muy delgado, ni muy grueso).
7. Dejar secar el extendido a temperatura ambiente.
8. Fijar con calor pasando el extendido por la flama del mechero rápidamente de tres a cuatro veces.
9. Realizar la tinción de Ziehl-Neelsen (**Apéndice 7**).

Lectura e identificación:

10. Observar la laminilla al microscopia con el objetivo de 100X utilizando aceite de inmersión
11. Revisar la laminilla en forma de línea recta de un extremo a otro para revisar toda la laminilla sin repetir ningún campo.

Los BAAR se observan como bastoncitos delgados, ligeramente curvos, de color rojo fucsia y de 1-10 μm de largo.

El número total de campos a revisar depende de si se encuentran bacilos y en qué cantidad, como a continuación se explica:

BAAR encontrados	No. Mínimo de campos a revisar
Ninguno	300
Menos de 1 por campo	100
De 1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
De 1 a 4 en todo el extendido	200



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

	Procedimientos a seguir frente al hallazgo de menos de 5 BAAR en 100 campos observados debido a la posibilidad de que se trate de artefactos de coloración, se recomienda: 12. Ampliar la lectura a 200 campos. Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra, tratando de elegir partículas purulentas. Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado anterior de la muestra debe informarse con el número exacto de BAAR observados.	
Procedimientos de control de calidad	El equipo, materiales y reactivos de laboratorio de microbiología es verificado con determinada frecuencia con el fin de verificar su funcionamiento adecuado.	
Interferencias	No aplica	
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	Calculo de BAAR Calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, sumando el total de BAAR contados y se divide entre el número de campos observados Promedio de BAAR = (Total de BAAR contados) / (# de campos observados)	
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Resultados de examen microscópico	Informe de resultados
	No se encuentran BAAR en los 300 campos observados	Negativo (-)
	Se observa menos de 1 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
	Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
	Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Cualquier resultado positivo indica una infección por micobacterias, y muy probablemente de una infección por Mycobacterium tuberculosis que afectan el tracto urinario, sin embargo el diagnóstico de tuberculosis debe ser asignado por el Médico tratante. En caso de un resultado negativo el diagnóstico de tuberculosis no se descarta hasta revisar todas las muestras seriadas de la expectoración del paciente, con especial atención si presenta sintomatología. Se recomienda realizar estudios confirmatorios para descartar el diagnóstico de tuberculosis.
Fuentes potenciales de variación	Las muestras mal colectadas, no representativas de la lesión, de cantidad insuficiente y mal conservadas y transportadas son fuentes de variabilidad, dando resultados falsos negativos. Los defectos en la realización del extendido, en la coloración, en la lectura, así como confusiones de muestras y extendidos también son fuentes de variabilidad, dando resultados tanto falsos positivos como falsos negativos. Debe recordarse que la baciloscopia positiva del sedimento de orina no necesariamente es diagnóstico concluyente de tuberculosis, por cuanto existen micobacterias saprófitas en el tracto urinario que pueden producir resultados falsos positivos. El diagnóstico debe ser completado con cultivo e identificación del bacilo observado.
Referencias	Manual para el diagnóstico de la tuberculosis. Organización Panamericana de la Salud. (2008). Sequeira María, Barrera Lucia y colaboradores. http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/782



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

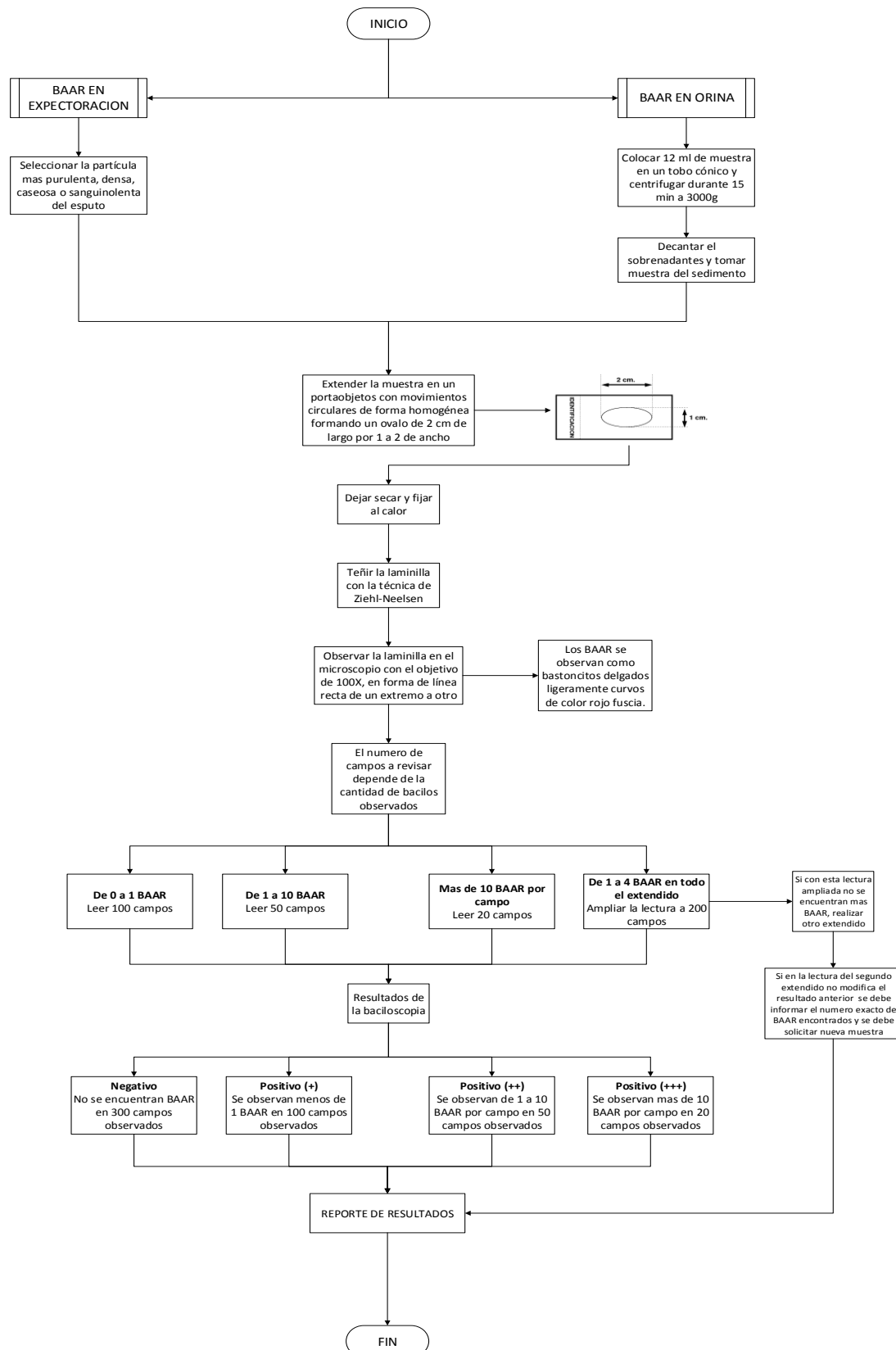
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO DE ESPERMA (ESPERMOCULTIVO)	
Propósito del examen	Identificar las bacterias patógenas causantes de infecciones en los conductos seminales, próstata y demás tejidos reproductores masculinos que alteren la funcionalidad de estos y puedan estar provocando problemas de salud y fertilidad.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La primera porción de la uretra en el hombre esta normalmente colonizada por diferentes microorganismos que incluyen estafilococos coagulasa negativos, corinebacterias, estreptococos, micoplasmas, bacterias anaerobias y con menos frecuencia levaduras. Tanto en el hombre como en la mujer las infecciones genitales más relevantes desde el punto de vista clínico, epidemiológico y de salud pública son las infecciones de transmisión sexual (ITS). Después de la uretra los demás conductos del aparato reproductor son estériles, si se encuentra algún microorganismo patógeno se altera el funcionamiento adecuado de los tejidos, además se presenta un proceso inflamatorio que se puede observar mediante la presencia de abundantes leucocitos en el semen así como el cambio del pH del mismo y podría presentarse una disminución de la cantidad de espermatozoides causando un estado de infertilidad. Uno de los patógenos más comunes es <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, un diplococo Gram negativo que provoca una secreción purulenta muy característica. Pueden existir otros patógenos que infecten estos tejido como lo son la microbiota uretral causando inflamación, dolor y ardor. Dentro de los síntomas se pueden presentar ardor al orinar, orquitis, dolor pélvico, dispareunia, se puede presentar semen con sangre o mucopurulento.
características de desempeño	No aplica

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Tipo de muestra	Semen
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Incubadora • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Asa de nicromio • Encendedor • Portaobjetos y cubreobjetos • Hisopos estériles Reactivos: • Placas de agar Sangre al 5%, agar gelosa Chocolate, agar Sal-Manitol y agar Mac Conkey • Tinción de Gram • Aceite de inmersión • Solución salina fisiológica • Pruebas bioquímicas • Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Realizar un aseo de los genitales externos con agua y jabón, enjuagando con abundante agua para retirar todo el jabón. 2. Pedir al paciente que orine antes de coleccionar la muestra para limpiar la uretra antes de la salida del semen. 3. El paciente debe obtener la muestra por masturbación sin usar condones, lubricantes o algún otro aditamento que altere la muestra. 4. Recolectar la muestra en un recipiente estéril de boca ancha. 5. Entregar al laboratorio en un lapso no mayor a 30 min, conservando la muestra a temperatura corporal. Siembra: 6. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). Después introducir el hisopo en un tubo con solución salina fisiológica. 7. Colocar una gota de solución salina fisiológica que contiene el hisopo, en un portaobjetos. 8. Poner un cubreobjetos, después observar al microscopio con el objetivo de 40X y reportar los resultados. 9. Inocular con el otro hisopo las placas de agar Mac Conkey, agar Sangre y agar Chocolate con el método de estriado para aislamiento (Apéndice 2). 10. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. El agar gelosa chocolate se incuba en condiciones parciales de CO₂ Identificación: Tinción de Gram 11. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos), eritrocitos, células epiteliales y la morfología



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, etc, tanto Gram positivos como Gram negativos). Examen directo 12. Observar al microscopio la presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, bacterias, levaduras y parásitos (sobre todo flagelados). Placas de agar 13. Examinar las placas en búsqueda de colonias de bacterias patógenas sospechosas causantes de la infección. 14. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 15. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensibilizadores. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Examen fresco: Las células, bacterias y levaduras se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Los leucocitos y

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	eritrocitos se reportan por el número observado por campo, si se observaron tricomonas se reporta directamente: “Se observaron trofozoitos de <i>Trichomonas vaginalis</i>”. Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la flora bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. Identificación bacteriana. - La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: No se observó crecimiento de microorganismos, o crecimiento escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. - Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados
Intervalo reportable de los resultados de alerta	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	En un cultivo positivo se considera al microorganismo patógeno aislado como agente causal de la infección. Si en el cultivo se observa el desarrollo de microorganismos de la biota normal de vías urinarias bajas, se debe considerar como un agente no causal de la enfermedad y el desarrollo se debe probablemente a una contaminación de la muestra y por lo tanto queda a criterio del Médico

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	y al estado inmunológico del paciente la prescripción de antibiótico. En los casos de un cultivo negativo se debe sospechar de un proceso infeccioso de tipo viral u otro tipo de bacterias que no se puedan cultivar por los medios convencionales por lo que se deben realizar estudios específicos para poder determinar el diagnóstico del paciente.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Terriquez-Fimbres MA y colaboradores. (2003) Número de colonias bacterianas y análisis seminal. Colegio mexicano de urología. Vol. XVIII, Núm. 3. pp 100-105



MANUAL

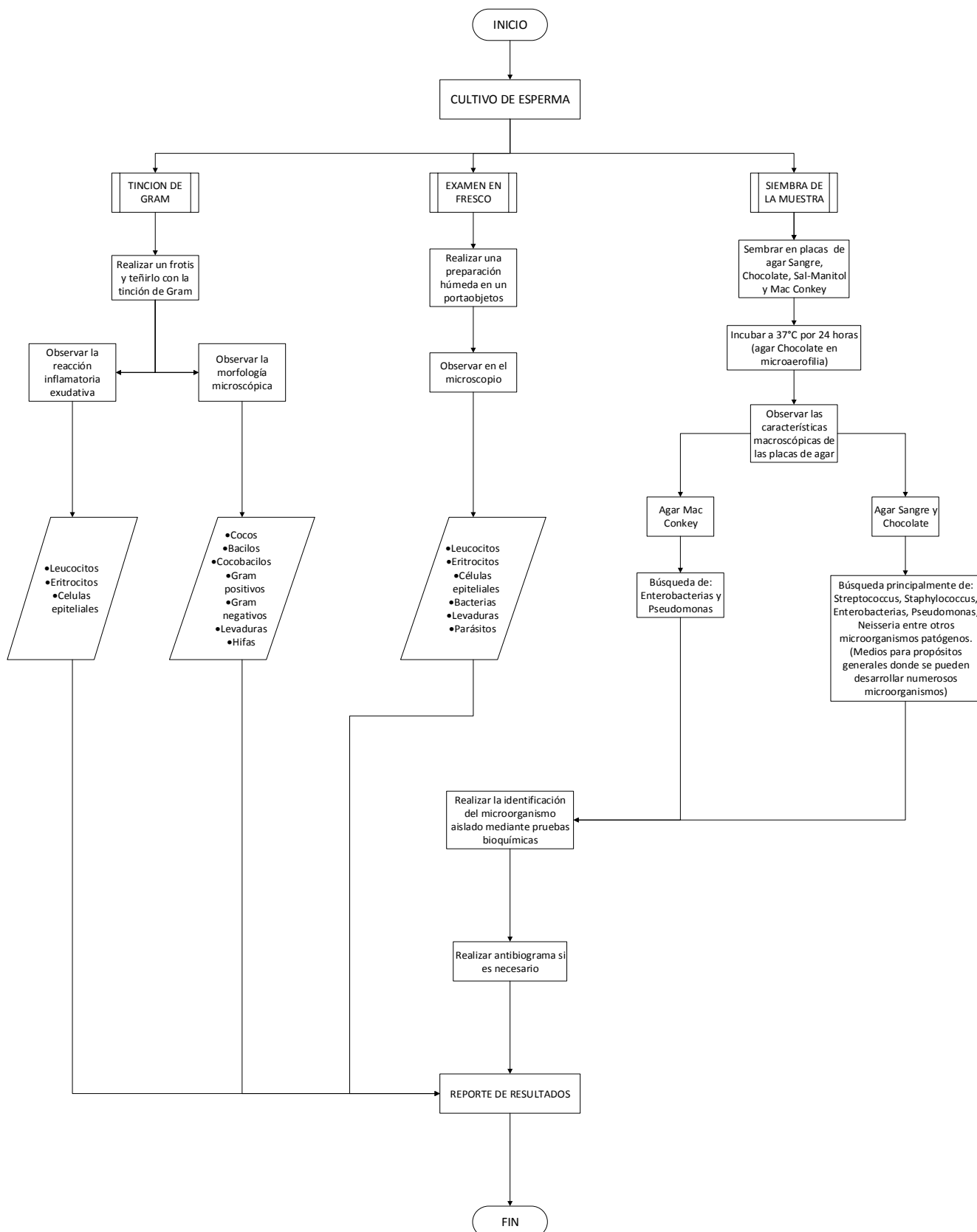
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019





MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización:

CULTIVO DE EXUDADO FARINGEO

Propósito del examen	Determinar los patógenos bacterianos causantes de faringitis estreptocócica.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La faringitis estreptocócica es una enfermedad muy común, es una infección faríngea primaria causada por estreptococos Beta-hemolíticos del grupo A, alrededor del 20% de los pacientes presentan dolor de garganta, fiebre, enrojecimiento de la faringe y exudado amigdalar purulento, el resto permanecen asintomático.
características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	• Secreción bucofaríngea
Preparación del paciente	• Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	• Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Incubadora • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Asa de nicromio • Encendedor • Tubo de ensaye • Portaobjetos Reactivos: • Placas de agar Sangre de carnero al 5% y agar Mac Conkey • Tinción de Gram • Aceite de inmersión • Solución salina fisiológica • Pruebas bioquímicas

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe utilizar los implementos de bioseguridad como son: bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. El abatelenguas y los hisopos utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Solicitar la apertura bucal, presionar la lengua hacia abajo ayudando de un abatelenguas e introducir dos hisopos estériles, comprimir las amígdalas con un rápido movimiento y frotar la superficie de la orofaringe rotando los hisopos. Siembra: 2. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). 3. Inocular con el otro hisopo en las placas de agar Sangre de carnero al 5% y agar Mac Conkey, estriar en el medio de cultivo (Apéndice 2). 4. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. Identificación: Tinción de Gram 5. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos) y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, fusiformes, etc, tanto Gram positivos como Gram negativos). Placas de agar 6. Examinar las placas en búsqueda de colonias de bacterias patógenas sospechosas causantes de la infección.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	7. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5) .
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, células, elementos micóticos, bacterias y otros elementos formes de importancia médica observados, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la morfología y la tinción de Gram. Identificación bacteriana. - Si hay desarrollo de microorganismos patógenos se reporta el género y especie de la bacteria identificada y si el desarrollo fue escaso, moderado o abundante. - Si no hay desarrollo de microorganismos patógenos ni beta hemolítico, se reporta como microbiota normal de orofaringe sin desarrollo de beta hemolíticos y si el desarrollo fue escaso, moderado o abundante.
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	En el caso de amigdalitis o faringitis se considera resultado positivo el aislamiento de microorganismos patógenos. En el caso de aislamiento de <i>Streptococcus</i> spp, no procede a realizar antibiograma por ser sensibilidad uniforme a penicilina. El aislamiento de otro microorganismo patógeno no causante de amigdalitis o faringitis bacteriana es mucho menos frecuente y puede ser el reflejo de una infección de otra zona del aparato respiratorio el cuál debe determinarse.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Cots Yago JM, et al. Guía clínica para el manejo de la faringoamigdalitis aguda del adulto. <i>Farmacéuticos Comunitarios</i> . 2015;7(1):20-31. doi:10.5672/FC.2173-9218.(2015/Vol1).001.04



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

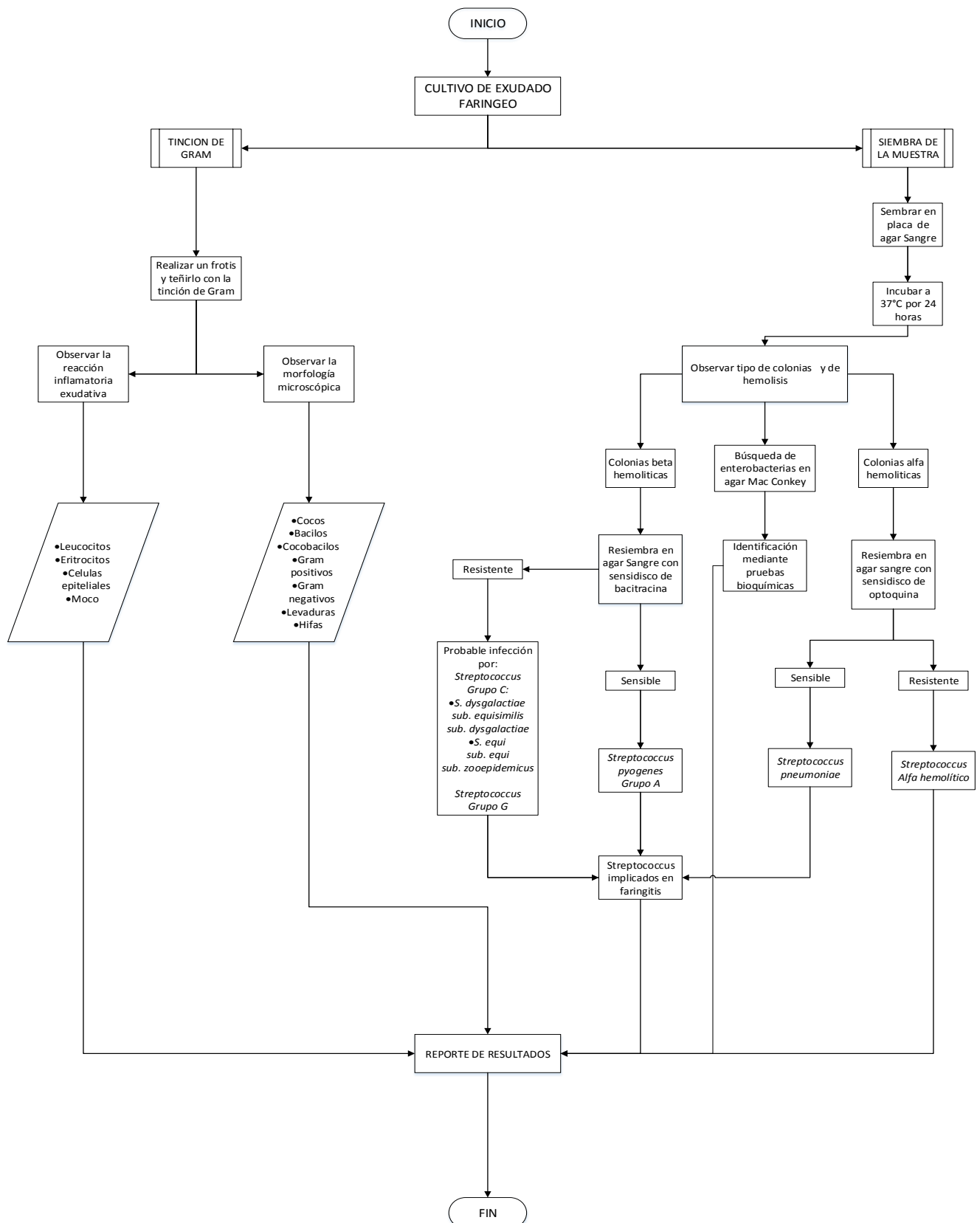
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO DE HECES (COPROCULTIVO)

Propósito del examen	Identificar las posibles bacterias patógenas causantes de infecciones gastrointestinales.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La porción inferior del intestino tiene una microbiota bacteriana normal excesivamente amplia. Los microorganismos con mayor prevalencia son los microorganismos entéricos Gram negativos, los anaerobios (<i>Bacteroides</i>, bacilos Gram positivos, <i>Streptococos</i>), y <i>Enterococcus faecalis</i>. Las principales causas de trastornos gastrointestinales agudos incluyen a los virus, las toxinas de: <i>Estafilococos</i>, <i>Vibriones</i>, <i>Escherichia coli</i>, bacilos entéricos Gram negativos invasores, los fermentadores lentos de la lactosa, la <i>Shigella</i>, la <i>Salmonella</i> y la <i>Campylobacter</i>. La importancia relativa de estos grupos tiene grandes discrepancias en las distintas partes del mundo. Las heces son los especímenes que se dispone con mayor facilidad. Cualquier intento por aislar bacterias patógenas de las heces implica la separación de estas mismas, usualmente a través del empleo de medios selectivos diferenciales y de cultivos enriquecidos. Se suspenden los especímenes en un caldo selectivo y se cultivan sobre medios ordinarios así como en medios selectivos diferenciales, para permitir la separación de los bacilos Gram negativos que no fermentan la lactosa de otras bacterias entéricas comunes. Los frotis teñidos pueden revelar una prevalencia de leucocitos y de ciertos microorganismos anormales como <i>Cándida</i> o <i>Estafilococos</i>, pero no pueden utilizarse para diferenciar las bacterias entéricas patógenas de las bacterias de la flora normal, por lo que deben realizarse otro tipo de pruebas para discriminar los tipos de bacterias presentes en la muestra como son las pruebas bioquímicas.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Heces
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: - Incubadora - Mechero de Bunsen - Microscopio - Tarja para tinciones - Asa de nicromio - Encendedor - Tubo de ensaye - Portaobjetos - Aplicador de madera - Hisopo estéril - Medio de transporte Reactivos: - Placa de agar Verde Brillante, agar Mac Conkey y agar SS - Caldo Selenito de Sodio - Tinción de Gram - Aceite de inmersión - Solución salina fisiológica - Pruebas bioquímicas - Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Siembra: Caldo Selenito de Sodio 1. Tomar con un aplicador 1 gr de muestra e inocularlo en el tubo con caldo girando el aplicador en el caldo. 2. Flamear la boca del tubo y taparlo. 3. Incubar el caldo 24 hrs a 37°C. Dirigido a muestras de filtro sanitario: 4. Inocular en agar Verde Brillante después de la incubación del caldo, tomando con el asa estéril una asada del caldo y descargando en el agar estriando con el método de aislamiento (Apéndice 2). Dirigido a muestras de pacientes: 5. Inocular en agar Mac Conkey y agar SS después de la incubación del caldo, tomando con el asa estéril una asada del caldo y descargando en los agares estriando con el método de aislamiento (Apéndice 2). Identificación: Placas de agar 6. Examinar las placas en búsqueda de colonias sospechosas de bacterias patógenas. 7. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 8. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos (Apéndice 4).

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Identificación bacteriana. - Si se obtuvo crecimiento de algún microorganismo patógeno se reporta: Género y especie del microorganismo aislado. - Si solo se obtuvo crecimiento de la flora normal sin desarrollo de ningún patógeno se reporta: Desarrollo de microbiota normal gastrointestinal. Sin desarrollo Salmonella Spp, Shigella Spp, Yersinia Spp. - Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	El crecimiento de bacterias de la microbiota normal intestinal no indica un resultado positivo ya que se compone de un gran número de

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	bacterias que se pueden recuperar al momento del aislamiento debido al tipo de muestra. Se considera un resultado positivo a los cultivos con crecimiento de bacterias patógenas de acuerdo al cuadro clínico del paciente, aun y cuando sean parte de la microbiota normal.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencia	Guía práctica de cultivo de heces. (2015).Facultad de estomatología. http://franklinnroosevelt.blogspot.com/2016/06/guia-practica-de-cultivo-de-heces.html



MANUAL

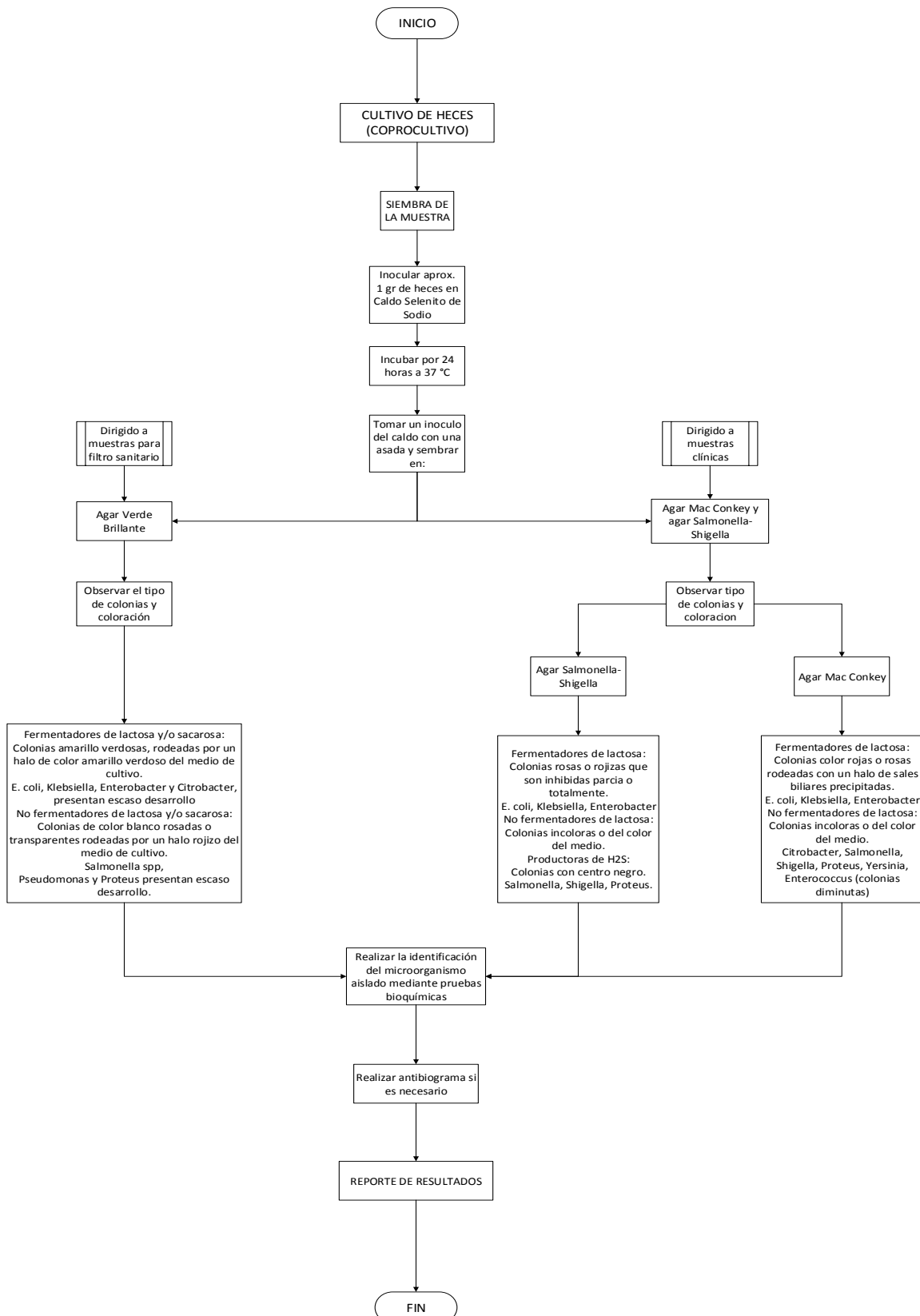
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO DE HERIDAS Y SECRECIONES	
Propósito del examen	Evaluar la presencia de bacterias en una posible infección de heridas y secreciones, aislando e identificando al agente patógeno para apoyar al médico en la confirmación del diagnóstico y orientación en el uso de antibióticos.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Los pacientes portadores de una herida se pueden infectar fácilmente ya que se rompe la barrera de la piel que nos protege de este tipo de infecciones y puede infectarse por vía endógena u exógena. La probabilidad de infección depende de la localización anatómica de la lesión, de los mecanismos de producción de la herida, debido a que la evolución de la herida será diferente dependiendo del cómo se produjo la misma. El tipo morfológico de la lesión y las características del paciente son también elementos importantes a considerar. Existe una flora comensal cutánea residente y otra transitoria, es decir, el cuerpo humano no es estéril, hay bacterias sobre la piel y en las capas más profundas que corresponden, en general, a bacterias aeróbicas y anaeróbicas. Entre los agentes más comunes se identifican: Aerobios: <i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>, <i>Corynebacterium sp</i>, <i>Micrococcus sp</i>, <i>Streptococcus viridans</i>. Anaerobios: <i>Peptostreptococcus</i>, <i>Propionibacterium</i>. La flora cutánea residente es constante, de baja patogenicidad, no se asocia a infecciones. La flora transitoria se compone habitualmente por <i>Staphylococcus aureus</i>, otros colonizadores de la piel son <i>Streptococcus</i> Grupo A, enterobacterias, <i>Acinetobacter</i>, y <i>Pseudomonas</i> que reside en la zona genital pero que en ciertas ocasiones se puede encontrar transitoriamente en otras zonas. El estudio microbiológico permite confirmar la causa de la infección, orientar la terapia antimicrobiana, conocer el reservorio y la vía de infección, y determinar conducta clínica a seguir con el paciente.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Hisopado de heridas y/o secreciones de heridas.
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: 1. Incubadora 2. Mechero de Bunsen 3. Microscopio 4. Tarja para tinciones 5. Asa de nicromio 6. Encendedor 7. Tubo de ensaye 8. Portaobjetos 9. Hisopo estéril Reactivos: - Placa de agar Sangre al 5%, agar gelosa Chocolate, agar Sal-Manito y agar Mac Conkey - Tinción de Gram - Aceite de inmersión - Solución salina fisiológica - Pruebas bioquímicas - Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes).

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico-infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: Muestra superficial: 1. Limpiar la herida con solución fisiológica por arrastre mecánico. 2. Humedecer dos hisopos estériles con solución fisiológica. 3. Frotar sobre la herida, en los bordes y el centro de esta, si es necesario transportar la muestra al laboratorio se deben de colocar los hisopos en un medio de transporte Stuart o Amies y se debe transportar inmediatamente. Muestra profunda: 4. Limpiar la superficie de la herida con alcohol etílico 70% y yodo. 5. Introducir la aguja de una jeringa estéril en la herida hasta la base. 6. Aspira la secreción tomando todo el volumen posible (como mínimo 0.5 ml) y si es necesario transportar la muestra se coloca en un tubo estéril y se tapa adecuadamente, conservando a temperatura ambiente. Siembra: 7. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). 8. Inocular las placas de agar Mac Conkey, agar Sal-Manitol, agar Sangre y agar Chocolate con el método de estriado para aislamiento (Apéndice 2).

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	9. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. El agar gelosa chocolate se incuba en condiciones parciales de CO₂ Identificación: Tinción de Gram 10. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos) y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, fusiformes, etc, tanto Gram positivos como Gram negativos). Placas de agar: 11. Examinar las placas en búsqueda de colonias bacterianas patógenas sospechosas causantes de la infección. 12. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 13. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o	Tinción de Gram del frotis directo: La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

valores de decisión clínica	Indicando además la microbiota bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. Identificación bacteriana. • La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: No se observó crecimiento de microorganismos, o crecimiento: escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. • Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados.
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Cualquier organismo patógeno cultivado a partir de una lesión con aparente infección se considera causante de la misma. Algunos microorganismos propios de la microbiota normal pueden ocasionar una infección leve en la herida, por lo que no se descarta como agente causal y se deja a consideración del Médico tratante la aplicación de medicamento en este tipo de infecciones. En infecciones necróticas y con un resultado negativo en el cultivo se recomienda realizar un cultivo anaerobio para descartar una infección por este tipo de bacterias.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Aburto Torres, I. (2011). Microbiología de las heridas y toma de cultivo. http://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Enfermeria/4839?ver=sindisenio



MANUAL

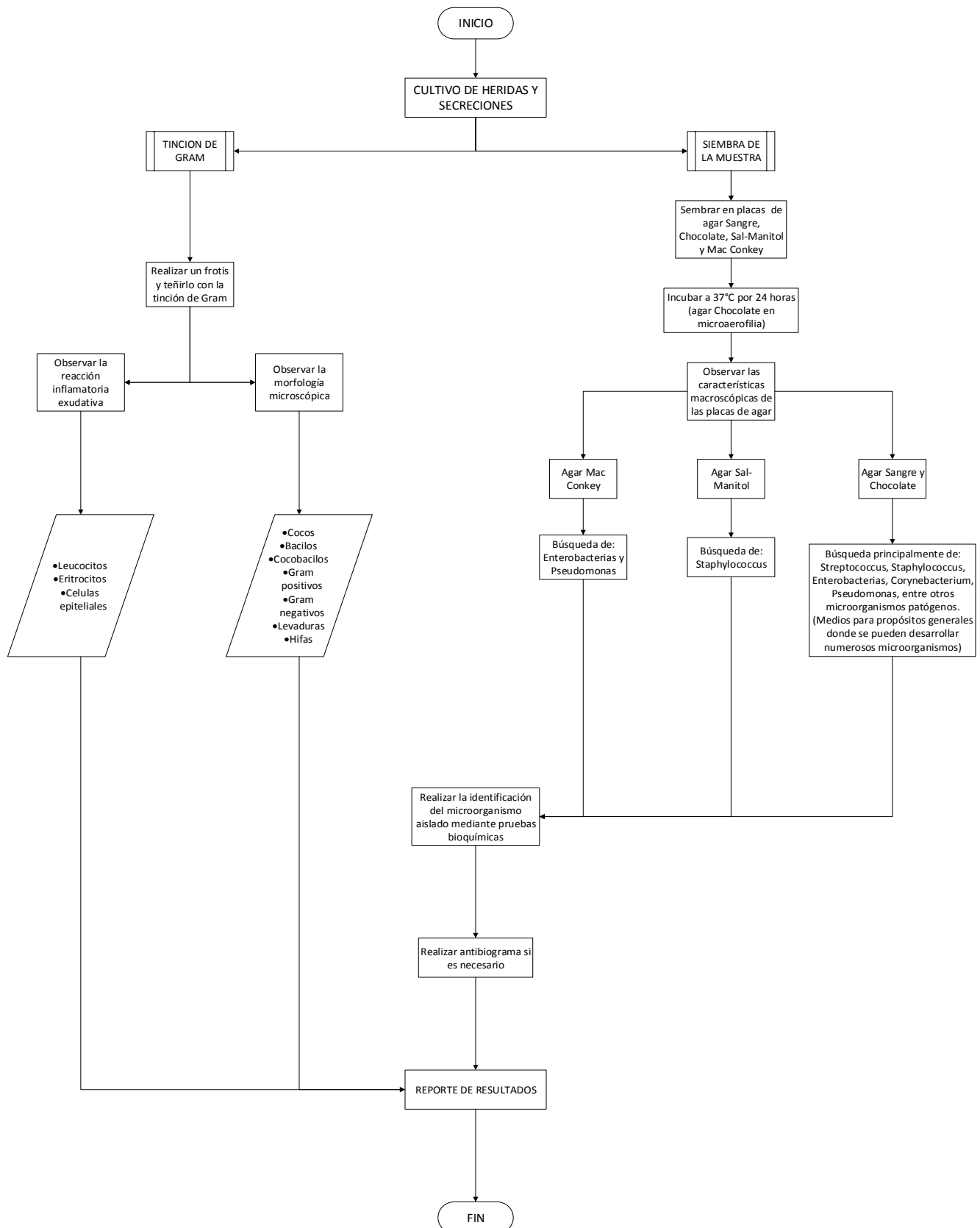
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO DE ORINA (UROCULTIVO)	
Propósito del examen	El análisis microbiológico de la orina va encaminado al diagnóstico de las infecciones bacterianas del aparato urinario, esencialmente cistitis y pielonefritis.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	El análisis de orina se considera la mejor guía para las enfermedades genitourinarias intrínsecas. Las infecciones de las vías urinarias superiores suelen ser ascendentes, esto es que se originan en la vejiga urinaria y ascienden por los uréteres hasta los riñones. La mayoría de las infecciones de las vías urinarias inferiores (cistitis) involucran a la vejiga, con diseminación potencial a la glándula prostática en hombres y la uretra en mujeres. Las personas mayores pueden portar infecciones asintomáticas de las vías urinarias que se reconocen solamente porque la orina puede parecer turbia o porque al microscopio se observan neutrófilos segmentados o una cantidad incrementada de bacterias. Los criterios de Kass nos ayudan a establecer la existencia o no de una infección en las vías urinarias, en función del número de unidades formadoras de colonias por ml de muestra (UFC/ml). Los criterios son los siguientes: un solo cultivo con más de 100,000 UFC/ml de un microorganismo indica una probabilidad de infección de 80%. Si dos cultivos presentan recuentos iguales o superiores a 100,000 UFC/ml del mismo germen la probabilidad de infección es del 96%. Si tres urocultivos con recuentos iguales o mayores a 100,000 UFC/ml la probabilidad es del 99%. De esta forma recuentos inferiores a 10,000 UFC/ml se consideran contaminación fisiológica y los recuentos entre 10,000 y 100,000 UFC/ml son considerados como sospechosos de infección. Debe tenerse en cuenta que la infección urinaria es monobacteriana por lo que cultivos con 2 o más bacterias deben ser considerados como contaminación aunque el recuento sea superior a 100,000 UFC/ml. Estos criterios son válidos para enterobacterias, sin embargo aquellas infecciones producidas por bacterias Gram positivas recuentos superiores 10,000 UFC/ml pueden ser significativos de infección. Entre los patógenos potenciales están: Escherichia coli, especies de Klebsiella, Entrobacter, Serratia, Proteus mirabilis, especies de Enterococcus, S. Aureus, S. Saprophyticus, Corynebacterium jeike, Especies de Acinetobacter, Ps. aeruginosa, y Neisseria gonorrhoeae.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Orina
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Incubadora • Centrifuga • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Asas de nicromio calibradas (100µl o 1000µl) • Encendedor • Tubo cónico • Portaobjetos y cubreobjetos Reactivos: • Placas de agar Sangre de carnero al 5% y agar Mac Conkey • Tinción de Sternheimer-Malbin • Tinción de Gram • Aceite de inmersión • Solución salina fisiológica • Pruebas bioquímicas • Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe utilizar los implementos de bioseguridad como son: bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	El recipiente de la muestra al igual que la muestra, son considerados como desechos normales. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico-infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Examen directo microscópico: - Colocar 12 ml en un tubo cónico. - Centrifugar a 1500 RPM durante 5 minutos. - Tomar 1 ml de sobrenadante y decantar el resto del sobrenadante. - Devolver el ml de sobrenadante al tubo con el sedimento y agitar bien. - Agregar 2 gotas del colorante Sternheimer-Malbin y dejar reposar por 1 min. - Tomar 10 ml del sedimento y colocar en un portaobjetos y poner un cubreobjetos. - Observar en el microscopio con el objetivo de 10X en los 4 extremos del cubreobjetos y después observar a 40X en el centro del cubreobjetos. - Reportar lo observado. Siembra: - Inocular la placa de agar sangre de carnero al 5% con estría cerrada (Apéndice 3). - Inocular la placa de agar Mac Conkey con el método de estriado para aislamiento (Apéndice 2). - Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. Identificación: Examen directo microscópico - Observar al microscopio la presencia de leucocitos, piocitos, eritrocitos, bacterias, levaduras, células epiteliales, moco y descartar la presencia de Trichomonas y reportar la presencia de cualquier cristal o cilindro.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Agar sangre carnero 5% 13. Examinar la placa en búsqueda crecimiento bacteriano, realizar el conteo de las colonias desarrolladas en el agar y determinar la concentración bacteriana de acuerdo al título del asa calibrada utilizada (1:100 o 1:1000). 14. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada. (Apéndice 5). 15. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos si la bacteria aislada se considera patógena y causante de infección en vías urinarias. (Apéndice 4). Agar Mac Conkey 16. Examinar la placa en búsqueda de crecimiento bacteriano. 17. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada. (Apéndice 5). 18. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos si la bacteria aislada se considera patógena y causante de infección en vías urinarias. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	El número total de UFC/mL se calcula de la siguiente manera: $\text{UFC/mL} = \text{No. de colonias contadas} \times \text{dilución del asa (100 o 1000)}$

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Examen directo microscópico: - Reportar por campo los leucocitos, eritrocitos y cilindros. - Reportar mediante los parámetros de Escasas, Moderadas o Abundantes las bacterias, células, moco, cristales y Trichomonas. Identificación bacteriana de acuerdo a: - Si no hubo crecimiento se reporta como: Negativo. - Reportar el número de UFC/ml y el género y especie de la bacteria. - Reportar la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados, si se realizó antibiograma (Apéndice 4).
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Se considera un resultado positivo y con alta probabilidad de una infección un recuento de 100,000 o más UFC/ml, el aislamiento de un recuento menor a 10,000 UFC/ml se puede considerar como una contaminación de la muestra al igual que un aislamiento de 2 o más especies bacterianas. No procede a realizar antibiograma a los casos que no son significativos de acuerdo a los criterios de Kass.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Referencias	Espinoza A. (2016). Infección urinaria neonatal.
	http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/asencios_em/marco%20teo.pdf



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

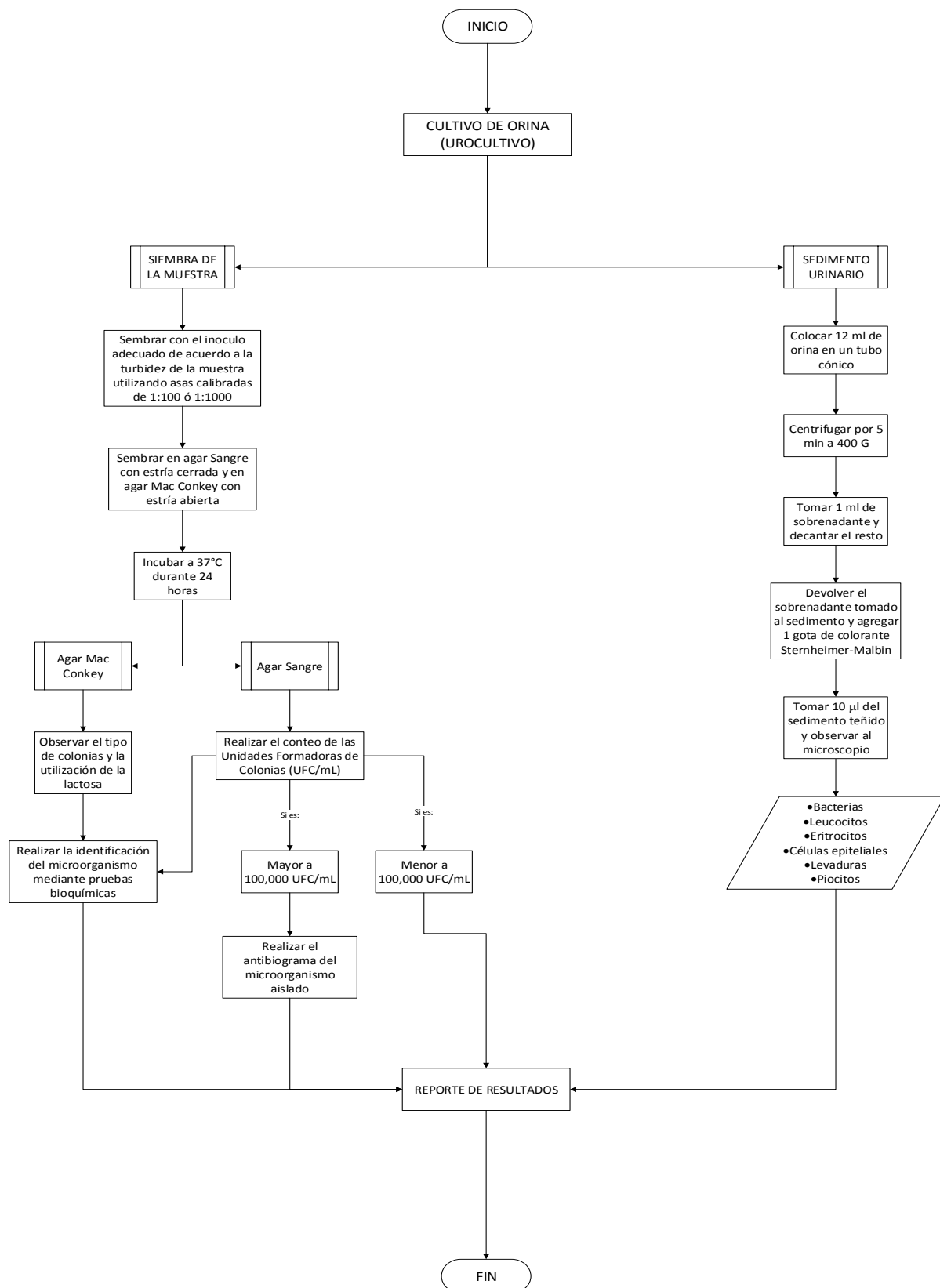
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO NASAL	
Propósito del examen	Identificar las bacterias patógenas causantes de infecciones en el tejido nasofaríngeo causante de rinitis.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Las infecciones de vías respiratorias superiores afectan a la población en general, son causa frecuente de consulta médica, sobre todo en la edad pediátrica. Las infecciones de vías respiratorias superiores, involucran a la cavidad nasal, faringe y senos paranasales. El 80% de estas infecciones son de etiología viral, en segundo lugar son producidas por bacterias. La rinitis es la manifestación clínica característica del resfrío común, se presenta con aumento de la secreción nasal, la cual suele ser clara y acuosa al inicio, conforme avanza el cuadro puede sobre agregarse una infección bacteriana; en estos casos la secreción se vuelve espesa o purulenta, requiriendo tratamiento con antibióticos. La rinitis alérgica cursa igualmente con aumento de secreción nasal, necesitándose el diagnóstico diferencial que oriente el tratamiento adecuado. Los agentes etiológicos de la rinitis con mayor frecuencia son los virus como: Virus Cocksackie A, virus parainfluenza e influenza, virus sincitial respiratorio, rinovirus, adenovirus, coronavirus; las bacterias y los hongos son agentes etiológicos menos frecuentes, pero los agentes que se pueden presentar son <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i> y <i>H. influenzae</i>.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Exudado nasal.
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Incubadora • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Asa de nicromio • Encendedor • Portaobjetos • Hisopos estériles Reactivos: • Placas de agar Sangre al 5%, agar Sal-Manitol y agar Mac Conkey • Tinción de Gram • Aceite de inmersión • Solución salina fisiológica • Pruebas bioquímicas • Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe utilizar los implementos de bioseguridad como son: bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Elevar la punta de la nariz del paciente con el dedo pulgar.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	2. Introducir un hisopo estéril hasta la base de la fosa nasal. 3. Rotar suavemente, en caso de ausencia de secreción humedecer el hisopo con solución salina fisiológica estéril. 4. Retirar el hisopo con cuidado para evitar la contaminación de microorganismos de la piel. 5. Realizar el mismo procedimiento con 2 hisopos y en cada fosa nasal. Siembra: 6. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). 7. Inocular con el otro hisopo en las placas de agar Sangre de carnero al 5%, agar Mac Conkey y agar Sal-Manitol; y estriar los medios de cultivo (Apéndice 2). 8. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. Identificación: Tinción de Gram 9. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos), eritrocitos, células epiteliales y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, etc, tanto Gram positivos como Gram negativos). Placas de agar: 10. Examinar las placas en búsqueda de colonias de bacterias patógenas sospechosas causantes de la infección. 11. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada. (Apéndice 5). 12. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos si es necesario. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la flora bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. Identificación bacteriana. - La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: no se observó crecimiento de microorganismos, crecimiento: escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. - Si se obtuvo un cultivo único de algún microorganismo se debe reportar como: cultivo único del microorganismo identificado. - Reportar la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados si se realizó antibiograma.
Intervalo de reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	El estudio bacteriológico del hisopado nasal es útil para investigar portadores de <i>Staphylococcus aureus</i> , screening para la búsqueda de portadores de <i>Streptococcus</i> β hemolítico grupo A y de <i>Neisseria meningitidis</i> . El cultivo nasal no predice el agente etiológico de infecciones en oído medio o el tracto respiratorio inferior. En los casos de un cultivo negativo se debe sospechar de un proceso infeccioso de tipo viral o un proceso alérgico del paciente por lo que se deben realizar otros estudios para poder determinar el diagnóstico del paciente.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Morales O et al. (2013). Etiología de las neumonías adquiridas en comunidad en la población infantil. <i>Neumol Pediatr</i> , 8 (2): 53-65.



MANUAL

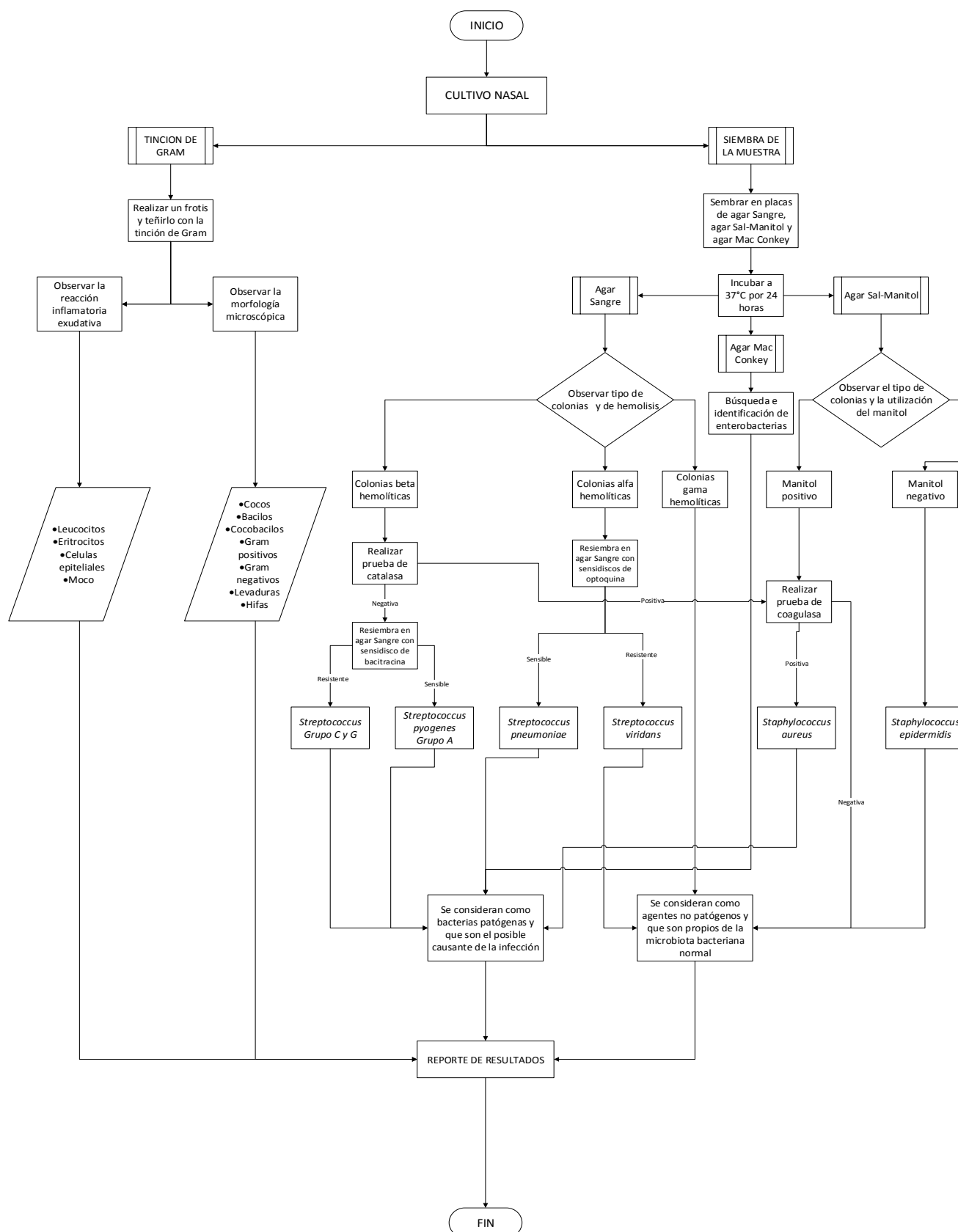
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO ÓTICO	
Propósito del examen	Identificar las bacterias patógenas causantes de infecciones en el oído externo, medio o interno, causantes de otitis, perforación timpánica y otorrea causando alteraciones en las funciones del aparato auditivo generando sordera temporal o permanente.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La mayor parte de las infecciones del oído afectan el conducto auditivo externo (otitis externa) o la cavidad media (otitis media). La otitis es una enfermedad del oído caracterizada por inflamación de la mucosa del oído externo, medio o interno (mastoides), perforación de la membrana timpánica y otorrea. La otitis externa es la infección del oído externo. Los factores de importancia en la patogenia de la otitis externa incluyen: traumatismo local, forunculosis, cuerpos extraños, o humedad excesiva, que causa maceración del epitelio del oído externo (oído del nadador). Algunas veces se desarrolla otitis externa como extensión de una infección del oído medio, con drenaje purulento a través de la membrana timpánica perforada. La otitis media es la inflamación del oído medio e incluye no solo a esa cavidad sino también a la trompa de Eustaquio y mastoides. Se produce infiltración por polimorfonucleares y se observan los signos clásicos de inflamación aguda. Las infecciones virales respiratorias superiores o los trastornos alérgicos pueden causar inflamación y edema de la trompa de Eustaquio o su orificio alterando sus funciones, que a su vez permite la entrada de bacterias potencialmente patógenas de la nasofaringe hacia el oído medio lo que puede ocasionar colonización e infección. La microbiota general del oído externo es similar a la de la piel, predominando Staphylococcus (coagulasa-negativo) y miembros del género Corynebacterium. Con menos frecuencia se observan especies de Bacillus, Micrococcus y Neisseria. En esta localización se han aislado también otros microorganismos que colonizan la piel en

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	forma transitoria como <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>P. aeruginosa</i> y especies de la familia <i>Enterobacteriaceae</i>, entre ellos, los géneros <i>Proteus</i>, <i>Escherichia</i>, <i>Enterobacter</i> y <i>Klebsiella</i>. Estudios micológicos demuestran que los siguientes géneros de hongos pertenecen a la microbiota normal: <i>Aspergillus</i>, <i>Alternaria</i>, <i>Penicillium</i>, <i>Cándida</i> y <i>Saccharomyces</i>. Los agentes etiológicos más frecuentes de infecciones óticas, en otitis externa son: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>; en ocasiones, especies de <i>Proteus</i>, <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>; los hongos, como las especies de <i>Aspergillus</i>, participan en ocasiones. En otitis media los agentes etiológicos son: <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> los más frecuentes, otros incluyen <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>S. aureus</i>, <i>P. aeruginosa</i>, especies de <i>Proteus</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i>, bacterias entéricas gramnegativas y bacterias anaerobias en casos crónicos.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	• Secreción ótica, hisopado ótico o aspirado ótico.
Preparación del paciente	• Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	• Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: • Incubadora • Mechero de Bunsen • Microscopio • Tarja para tinciones • Asa de nicromio • Encendedor • Tubos de ensaye estériles • Portaobjetos y cubreobjetos • Hisopos estériles • Jeringa

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Reactivos: • Placa de agar Sangre al 5%, agar gelosa Chocolate, agar Sal-Manitol y agar Mac Conkey • KOH 10% • Tinción de Gram • Aceite de inmersión • Solución salina fisiológica • Pruebas bioquímicas • Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Determinar primeramente el tipo de otitis que presente el paciente Otitis externa: 2. Limpiar el canal externo con solución salina fisiológica estéril e introducir un hisopo estéril en el conducto auditivo externo. Otitis media:



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: **1**

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

3. Obtener la muestra a través de un procedimiento médico; posterior a la limpieza del canal auditivo externo con un antiséptico suave.
4. Recolectar la muestra mediante aspiración cuidadosa con una aguja estéril a través de la membrana timpánica o más atrás.

Siembra:

5. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (**Apéndice 1**).
6. Introducir el hisopo en un tubo con solución salina fisiológica.
7. Colocar una gota, de la solución salina fisiológica que contiene el hisopo, en un portaobjetos y se coloca un cubreobjetos, después se observa al microscopio con el objetivo de 40X.
8. Introducir un hisopo inoculado en un tubo con KOH 10%. Después colocar una gota en un portaobjetos y colocar un cubreobjetos, se observa al microscopio con objetivo de 40X en busca de levaduras.
9. Inocular con el otro hisopo las placas de agar Mac Conkey, agar Sal-Manitol, agar Sangre y agar Chocolate con el método de estriado para aislamiento (**Apéndice 2**).
10. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. El agar gelosa chocolate se incuba en condiciones parciales de CO₂.

Identificación:

Tinción de Gram

11. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos), eritrocitos, células epiteliales y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, levaduras, etc., tanto Gram positivos como Gram negativos).

Examen directo y KOH 10%

12. Observar al microscopio la presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, bacterias y levaduras.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Placas de agar 13. Examinar las placas en búsqueda de colonias de bacterias patógenas sospechosas causantes de la infección 14. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 15. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Examen fresco: - Las células, bacterias y levaduras se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Los leucocitos y eritrocitos se reportan por el número observado por campo. Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la flora bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. Identificación bacteriana: - La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: No se observó crecimiento de microorganismos, o

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	crecimiento escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. • Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados del examen	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Un cultivo positivo indica que el paciente presenta una infección por dicho agente patógeno aislado, si en el cultivo se observa el desarrollo de microorganismos de la biota normal se debe considerar como un agente no causal de la enfermedad y queda a criterio del Médico y de acuerdo al estado inmunológico del paciente el utilizar antibióticos para su control. En un cultivo negativo se debe sospechar de un proceso infeccioso de tipo viral, parasitario o un proceso inflamatorio inespecífico, por lo que se deben realizar otros estudios para poder determinar el diagnóstico del paciente.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Campos Navarro L. A., et al. (2014). Otitis media aguda y crónica, una enfermedad frecuente y evitable. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. Vol. 57, N.o 1.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

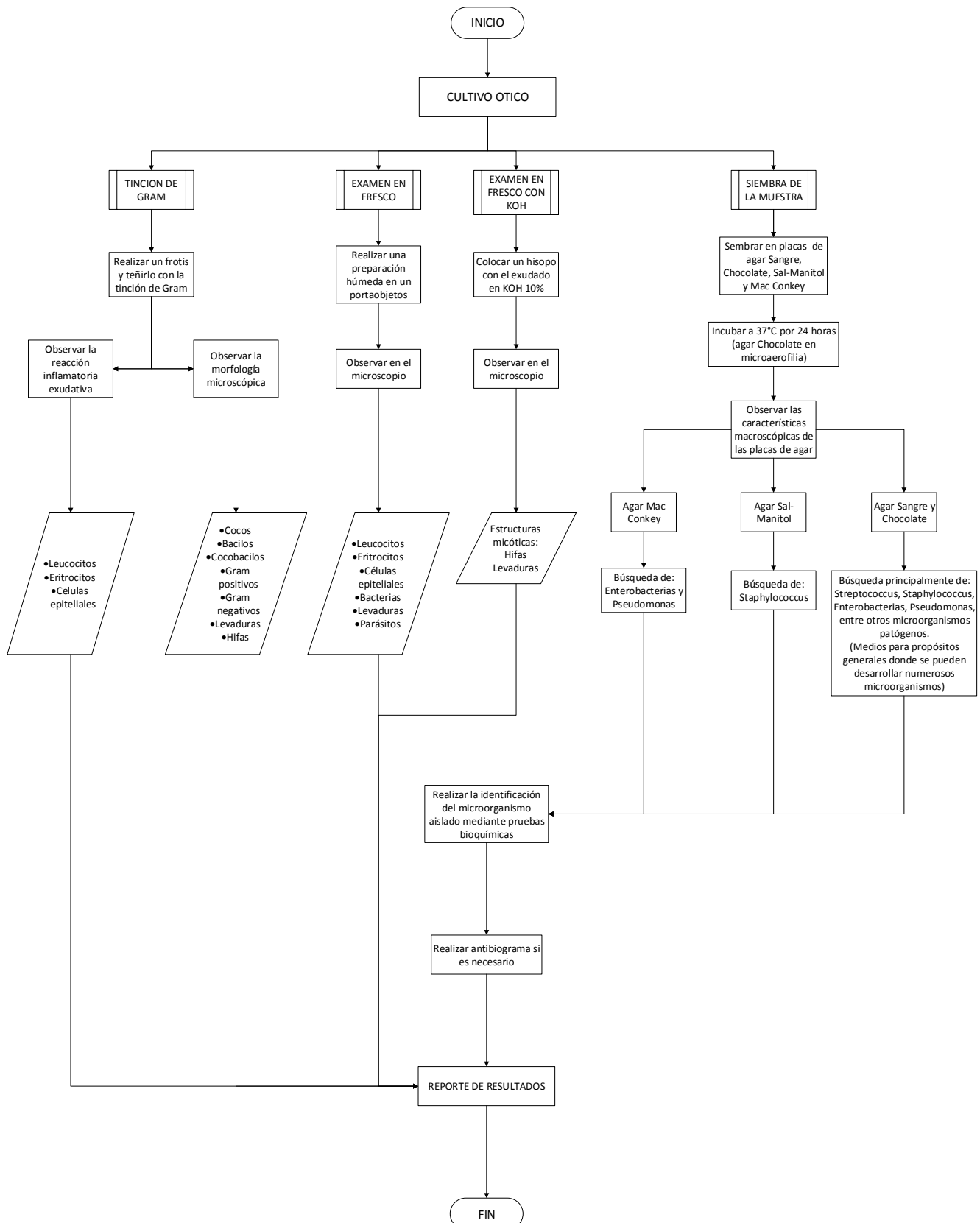
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO URETRAL (EXUDADO URETRAL)	
Propósito del examen	Identificar las bacterias patógenas causantes de infecciones en la uretra de pacientes masculinos, causantes de ardor al orinar, flujo uretral purulento e incluso de enfermedades de transmisión sexual.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La primera porción de la uretra en el hombre esta normalmente colonizada por diferentes microorganismos que incluyen estafilococos coagulasa negativos, corinebacterias, estreptococos, micoplasmas, bacterias anaerobias y con menos frecuencia levaduras. Tanto en el hombre como en la mujer las infecciones genitales más relevantes desde el punto de vista clínico, epidemiológico y de salud pública son las infecciones de transmisión sexual (ITS). Dentro de éstas tenemos: gonorrea, sífilis, chancro blando, linfogranuloma venéreo y granuloma inguinal. Las ITS de nueva generación comprenden las infecciones producidas por Chlamydia trachomatis (sero variedades D hasta la K). La uretritis consiste en la inflamación de la uretra, que ocasiona síntomas como: disuria, dispareunia, secreción uretral mucopurulenta y eritema del meato. La secreción uretral es más cuantiosa y purulenta en la uretritis gonocócica. A diferencia de la infección en la mujer, el 90 % de las uretritis en el hombre son sintomáticas. La uretritis no gonocócica (UNG) es el cuadro más común en el hombre y su principal agente etiológico es C. trachomatis. Desde el punto de vista microscópico se establece como criterio clínico de uretritis la presencia de 5 o más polimorfonucleares por campo, en 100X. El éxito del diagnóstico de las infecciones genitales, depende primordialmente de que la muestra a procesar sea representativa del proceso infeccioso, que la misma sea recolectada en condiciones óptimas y transportadas adecuada y rápidamente al laboratorio. Así mismo, es necesario el conocimiento de la microbiota habitual, los patógenos potenciales y de los diferentes factores que conforman el ecosistema genital.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Exudado uretral y/o hisopado uretral
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: - Incubadora - Mechero de Bunsen - Microscopio - Tarja para tinciones - Asa de nicromio - Encendedor - Tubos de ensaye estériles - Portaobjetos y cubreobjetos - Hisopos estériles - Medio de transporte Reactivos: - Placa de agar Sangre al 5%, agar gelosa Chocolate y agar Mac Conkey - Tinción de Gram - Aceite de inmersión - Solución salina fisiológica - Pruebas bioquímicas - Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes).

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Pedir al paciente que se descubra los genitales y retraer el prepucio. 2. Tomar la muestra de la secreción con un hisopo. 3. Si no hay secreción, realizar una asepsia, con solución salina fisiológica estéril, del meato urinario. 4. Introducir el hisopo estéril en la uretra rotándolo, aproximadamente 2 cm, se debe tener cuidado de no tocar los genitales externos para no contaminar la muestra. Siembra: 5. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). Después se introduce el hisopo en un tubo con solución salina fisiológica. 6. Colocar una gota, de la solución salina fisiológica que contiene el hisopo, en un portaobjetos y se coloca un cubreobjetos, después se observa al microscopio con el objetivo de 40X y se reportan los resultados. 7. Inocular con el otro hisopo las placas de agar Mac Conkey, agar Sangre y agar Chocolate con el método de estriado para aislamiento (Apéndice 2). 8. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. El agar gelosa chocolate se incuba en condiciones parciales de CO₂ Identificación:

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Tinción de Gram 9. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos), eritrocitos, células epiteliales y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, etc, tanto Gram positivos como Gram negativos). Examen directo 10. Observar al microscopio la presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, bacterias, levaduras y parásitos (sobre todo flagelados) Placas de agar: 11. Examinar las placas en búsqueda de colonias de bacterias patógenas sospechosas causantes de la infección. 12. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 13. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos. (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Examen fresco: - Las células, bacterias y levaduras se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Los leucocitos y eritrocitos se reportan por el número observado por campo, si se observaron tricomonas se reporta directamente: “Se observaron trofozoitos de <i>Trichomonas vaginalis</i>”. Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la microbiota bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. Identificación bacteriana. - La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: No se observó crecimiento de microorganismos, o crecimiento escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. - Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Un cultivo positivo se considera al microorganismo patógeno aislado como agente causal de la infección. Si se observa el desarrollo de microorganismos de la biota normal uretral, se debe tomar en cuenta varios criterios para que se considere como un agente causal de la

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	enfermedad y por lo tanto queda a criterio del Médico y de acuerdo al estado inmunológico del paciente la utilización de antibiótico para su control. En el caso de un cultivo negativo se debe sospechar de un proceso infeccioso viral u otro tipo de bacterias que no se puedan cultivar por los medios convencionales por lo que se deben realizar estudios específicos para poder determinar el diagnóstico.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento.
Referencias	Puerta-Suárez, J. et al. (2014). Infecciones bacterianas del tracto reproductivo masculino y su papel en la fertilidad. Rev. chil. obstet. ginecol. vol.79 no.3



MANUAL

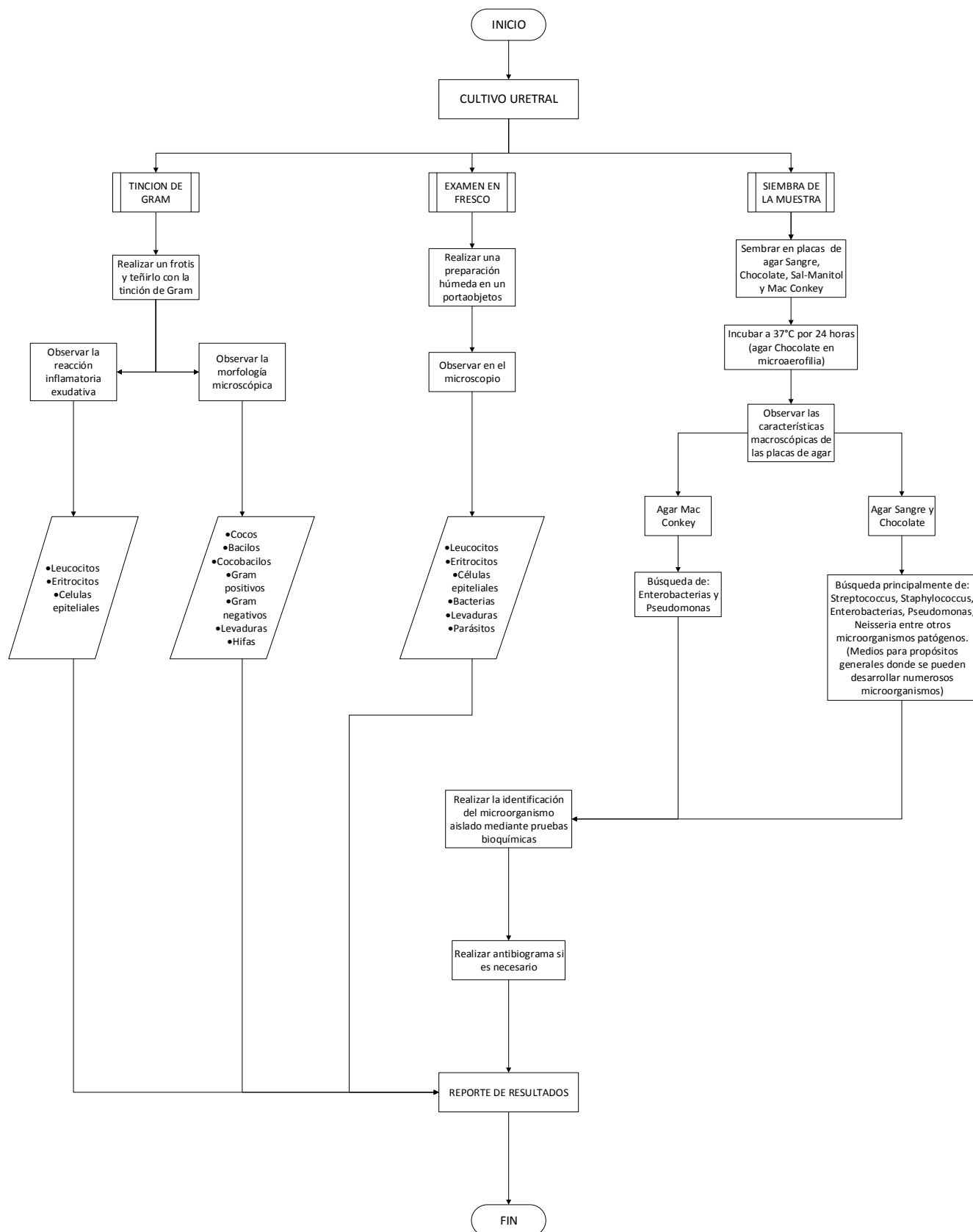
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

CULTIVO VAGINAL	
Propósito del examen	Identificar las bacterias patógenas causantes de infecciones en el aparato genital femenino causantes de vaginitis, dolor pélvico, flujo vaginal anormal e incluso de enfermedades de transmisión sexual.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	La mucosa genital es una región vulnerable a la infección producida tanto por microorganismos constitutivos de la microbiota habitual como por los adquiridos de forma exógena. La primera porción de la vulva y la vagina en la mujer están normalmente colonizadas por diferentes microorganismos, que incluyen estafilococos coagulasa negativo, corinebacterias, estreptococos, micoplasmas, bacterias anaerobias y, con menos frecuencia, levaduras. En el caso de la mujer en edad reproductiva destaca la presencia de cantidades significativas de <i>Lactobacillus acidophilus</i>, este agente ejerce un control biológico sobre otros microorganismos, constituyéndose en un mecanismo de defensa muy importante para el epitelio vaginal. En ocasiones las infecciones del tracto genital femenino pueden ser de origen endógeno, causadas principalmente por: <i>Gardnerella vaginalis</i>, <i>Streptococcus agalactiae</i> o <i>Candida sp.</i> Las infecciones genitales más relevantes desde el punto de vista clínico, epidemiológico y de salud pública son las infecciones de transmisión sexual (ITS). Dentro de éstas tenemos las ITS clásicas: gonorrea, sífilis, chancro blando, linfogranuloma venéreo y granuloma inguinal. Las ITS de nueva generación comprenden las infecciones producidas por <i>Chlamydia trachomatis</i> (serovariedades D hasta la K), Virus Herpes Simplex, Virus Papiloma Humano y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. El éxito del diagnóstico de las infecciones genitales, depende primordialmente de que la muestra a procesar sea representativa del proceso infeccioso. Así mismo, es necesario el conocimiento de la microbiota habitual, los patógenos potenciales y de los diferentes factores que conforman el ecosistema genital.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Exudado vaginal. y/o raspado de endocervix.
Preparación del paciente	Ver MAN-TM-01
Tipo de contenedor y aditivos	Ver MAN-TM-01
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: - Incubadora - Mechero de Bunsen - Microscopio - Tarja para tinciones - Asa de nicromio - Encendedor - Tubos de ensaye estériles - Portaobjetos y cubreobjetos - Hisopos estériles Reactivos: - Placa de agar sangre al 5%, agar gelosa chocolate y agar Mac Conkey - KOH 10% - Tiras de pH - Tinción de Gram - Aceite de inmersión - Solución salina fisiológica - Pruebas bioquímicas - Sensidiscos con antibióticos
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Colección de la muestra: 1. Pedir al paciente desvestirse de la cintura para abajo y solicitar que se recueste en la camilla con los pies apoyados en los estribos de la misma. 2. Introducir el espejo vaginal lentamente en la vagina de la paciente y se abre para poder observar dentro de la vagina. 3. Introducir 3 hisopos estériles tomando la muestra del exudado, y de los lugares donde se observe inflamación cerca del cérvix, se debe tener cuidado de no tocar los genitales externos para no contaminar la muestra. Siembra: 4. Frotar un hisopo en un portaobjetos, fijar al calor y realizar tinción de Gram (Apéndice 1). 5. Medir el pH directo de la muestra frotando el exudado en una tira de pH 6. Introducir un hisopo en un tubo con solución salina fisiológica. 7. Colocar una gota, de la solución salina fisiológica que contiene el hisopo, en un portaobjetos y se coloca un cubreobjetos. 8. Observar al microscopio con el objetivo de 40X y se reportar los resultados.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	9. Introducir un hisopo con el exudado en un tubo con KOH 10% y oler el hisopo y la solución. 10. Inocular con otro hisopo las placas de agar Mac Conkey, agar Sangre y agar Chocolate con el método de estriado para aislamiento (Apéndice 2). 11. Incubar las placas de agar a 37°C durante 24 hrs. El agar gelosa chocolate se incuba en condiciones parciales de CO₂ Identificación: Tinción de Gram 12. Observar al microscopio la reacción inflamatoria exudativa (leucocitos), eritrocitos, células epiteliales y la morfología microscópica (cocos, cocobacilos, bacilos, hifas, etc., tanto gram positivos como gram negativos). Examen directo 13. Observar al microscopio la presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, bacterias, levaduras y parásitos (sobre todo flagelados) Prueba de aminos 14. Oler el hisopo y la solución de KOH 10% para identificar un olor a aminos (olor a pescado), que es característico de infecciones por Gardnerella vaginalis. Placas de agar 15. Examinar las placas en búsqueda de colonias bacterianas patógenas sospechosas causantes de la infección. 16. Realizar pruebas bioquímicas necesarias para identificar la bacteria cultivada (Apéndice 5). 17. Determinar la sensibilidad a los antibióticos mediante la prueba con sensidiscos (Apéndice 4).
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Examen fresco: - Las células, bacterias y levaduras se reportan: escaso, moderado o abundante. Los leucocitos y eritrocitos se reportan: número observado por campo, si se observan tricomonas se reporta directamente: “Se observaron trofozoitos de Trichomonas vaginalis”. Tinción de Gram del frotis directo: - La reacción inflamatoria exudativa, así como las células observadas, se reportan bajo los parámetros de escaso, moderado o abundante. Indicando además la microbiota bacteriana observada en la tinción de Gram y la morfología. . Identificación bacteriana. - La bacteria aislada se reporta bajo los parámetros de crecimiento: No se observó crecimiento de microorganismos, o crecimiento escaso, moderado o abundante, así como el género y especie de la bacteria identificada. - Si se realizó antibiograma se reporta la sensibilidad o resistencia a los antibióticos probados
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	En un cultivo positivo se considera al microorganismo patógeno aislado como agente causal de la infección. Si en el cultivo se observa el desarrollo de microorganismos de la biota normal vaginal, se debe tomar en cuenta varios criterios para que se considere como un agente causal de la enfermedad y por lo tanto se deja a decisión del médico y de acuerdo al estado inmunológico del paciente así como el equilibrio de la microbiota vaginal la prescripción de antibiótico. En el caso de un cultivo negativo se debe sospechar de un proceso infeccioso viral u otro tipo de bacterias que no se puedan cultivar por los medios convencionales por lo que se deben realizar estudios específicos para poder determinar el diagnóstico del paciente.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.
Referencias	Álvarez-Calatayud, G. et al. (2015). La microbiota en la mujer; aplicaciones clínicas de los probióticos. Nutr Hosp. 2015;32(Supl. 1):56-61. Cannoni, G. (2011). Vulvovaginitis e Infecciones de Transmisión Sexual en la Adolescencia. Rev. Med. Clin. ; 22(1) 49 - 57



MANUAL

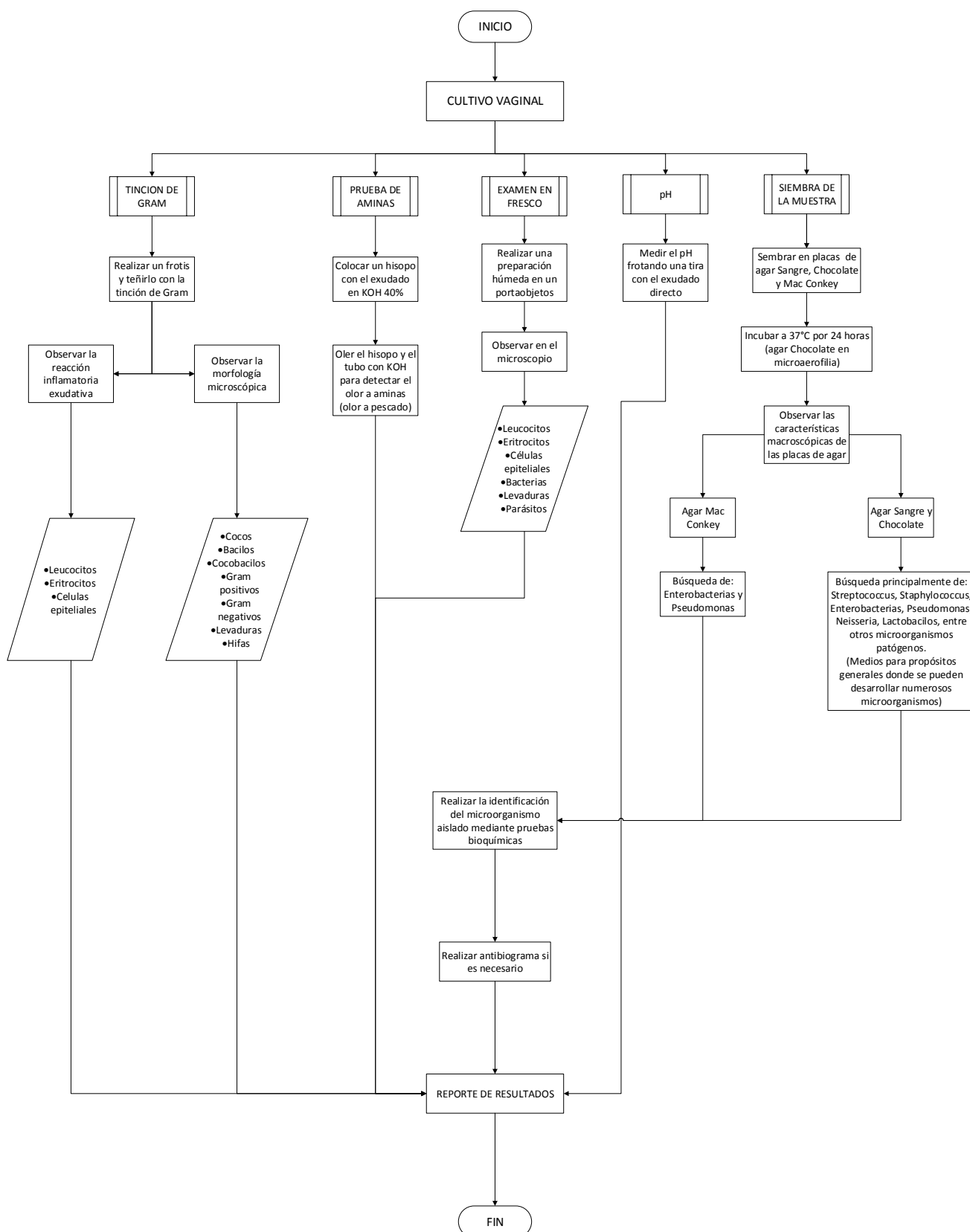
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019





MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APÉNDICE 1: TINCIÓN DE GRAM

Propósito del examen	Diferenciar el tipo de envoltura celular que presentan las bacterias en los grupos de Gram positivos y Gram negativos de acuerdo a las características de la pared celular
Principio y método del procedimiento utilizado	La mayoría de las bacterias tienen una cubierta externa químicamente compleja llamada envoltura celular, que separa el medio exterior del citoplasma. Está compuesta por dos o tres capas básicas: la pared celular, la membrana celular y en algunas bacterias la membrana externa. El médico danés Hans Christian Gram desarrolló una técnica de tinción que dividió a las bacterias en dos grandes grupos estructuralmente diferentes. La tinción hoy es conocida como tinción de Gram y divide a las bacterias en Gram positivas y Gram negativas. En las células Gram positivas la envoltura celular se compone de dos capas: la pared celular gruesa, compuesta principalmente por péptidoglicano, y la membrana celular. En las células Gram negativas la envoltura celular se compone de tres capas: la membrana externa, una pared celular delgada y la membrana celular. La pared celular ayuda a determinar la forma de una bacteria y provee soporte necesario para darle estabilidad a la bacteria. Debe su rigidez a la macromolécula de péptidoglicano que se constituye por unidades alternas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico ligados por péptidos cortos. Las bacterias Gram positivas tienen en su pared una cantidad homogénea del 60 al 90% de péptidoglicano cuyo grosor varía entre 20 y 80 nm. Muchas bacterias Gram negativas contienen además un grupo de polisacáridos aniónicos (ácidos teicoicos y lipoteicoicos) en su pared celular, estas moléculas contribuyen a la carga ácida de la pared. La pared celular de las bacterias Gram negativas tienen menos péptidoglicano, cerca del 10% del total de la pared, que generalmente



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	mide 2 nm y está rodeada de una bicapa lipídica llamada membrana externa, esta membrana es similar en construcción a la membrana celular excepto porque contiene polisacáridos y proteínas especializadas, además contiene los lipopolisacáridos. El colorante primario en la tinción de Gram es el cristal violeta, que es recogido por la pared celular. El yodo adicionado aumenta la coloración del cristal violeta formando el complejo cristal violeta-yodo que se queda en la pared celular, después de la decolorización con alcohol-acetona en las células Gram negativas el agente decolorante disuelve los polisacáridos de la membrana externa y también lava el complejo cristal violeta-yodo de la delgada capa de péptidoglicano de la pared, mientras que en las células Gram positivas el complejo cristal violeta-yodo no es removido por completo de la gruesa capa de péptidoglicano por lo que al agregar el colorante de contraste que es la safranina las células Gram negativas se tiñen con la safranina viéndose de un color rojo o rosado y las células Gram positivas no se tiñen con la safranina ya que tienen la pared saturada de cristal violeta por lo que se ven de color morado.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Frotis fijado al calor
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	Portaobjetos
Equipo y reactivos requeridos	• Mechero de Bunsen • Microscopio • Aceite de inmersión • Portaobjetos • Cristal violeta • Yodo Gram • Alcohol-acetona • Safranina

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	• Tarja de tinciones • Agua de la llave
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Pasos del procedimiento	Preparación del frotis 1. Colocar una gota de solución salina en un portaobjetos. 2. Extender una pequeña cantidad del cultivo con el asa en la gota de solución salina (si el frotis se realiza directo de la toma de muestra y no de un cultivo, solo se extiende la muestra en un portaobjetos) en forma circular realizando un pequeño ovalo. 3. Dejar secar al aire y a temperatura ambiente. 4. Fijar el frotis pasándolo por la flama del mechero de 2 a 3 veces. Tinción de Gram. 5. Cubrir el frotis con cristal violeta por 1 min. 6. Enjuagar el frotis con agua. 7. Cubrir el frotis con yodo Gram por 1 min. 8. Enjuagar el frotis con agua. 9. Decolorar el frotis con alcohol-acetona por 10 a 15 segundos, asegurándose que quede bien decolorado. 10. Enjuagar el frotis con agua. 11. Cubrir el frotis con safranina por 1 min. 12. Enjuagar el frotis con agua. 13. Escurrir bien y dejar secar el frotis.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	14. Observar la tinción en el microscopio con el objetivo de 100X utilizando el aceite de inmersión.
Procedimientos de control de calidad	Control Gram positivas: 1. Realizar la tinción de Gram a una cepa de Staphylococcus aureus previamente identificada e incubada en agar por 24 horas. 2. Observar en el microscopio los cocos Gram positivos. 3. Anotar el resultado del control en la respectiva bitácora. Control Gram negativas: 4. Realizar la tinción de Gram a una cepa de Escherichia coli previamente identificada e incubada en agar por 24 horas. 5. Observar en el microscopio los bacilos Gram negativos. 6. Anotar el resultado del control en la respectiva bitácora.
Interferencias	No aplica
Principio del procedimiento para cálculo de resultados	No aplica
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	Las bacterias observadas se deben de reportar como Gram negativas o Gram positivas con los parámetros de escasos, moderados o abundantes así como la morfología que presentan (bacilos o cocos).
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	• Bacterias Gram negativas: color rosa o color rojizo • Bacterias Gram positivas: color morado o color azul-violeta
Fuentes potenciales de variación	El tiempo de acción de cada colorante debe ser exacto por lo que se debe utilizar un cronometro calibrado. Almacenamiento inadecuado de los reactivos

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Cepas control inadecuadas.
--	----------------------------



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

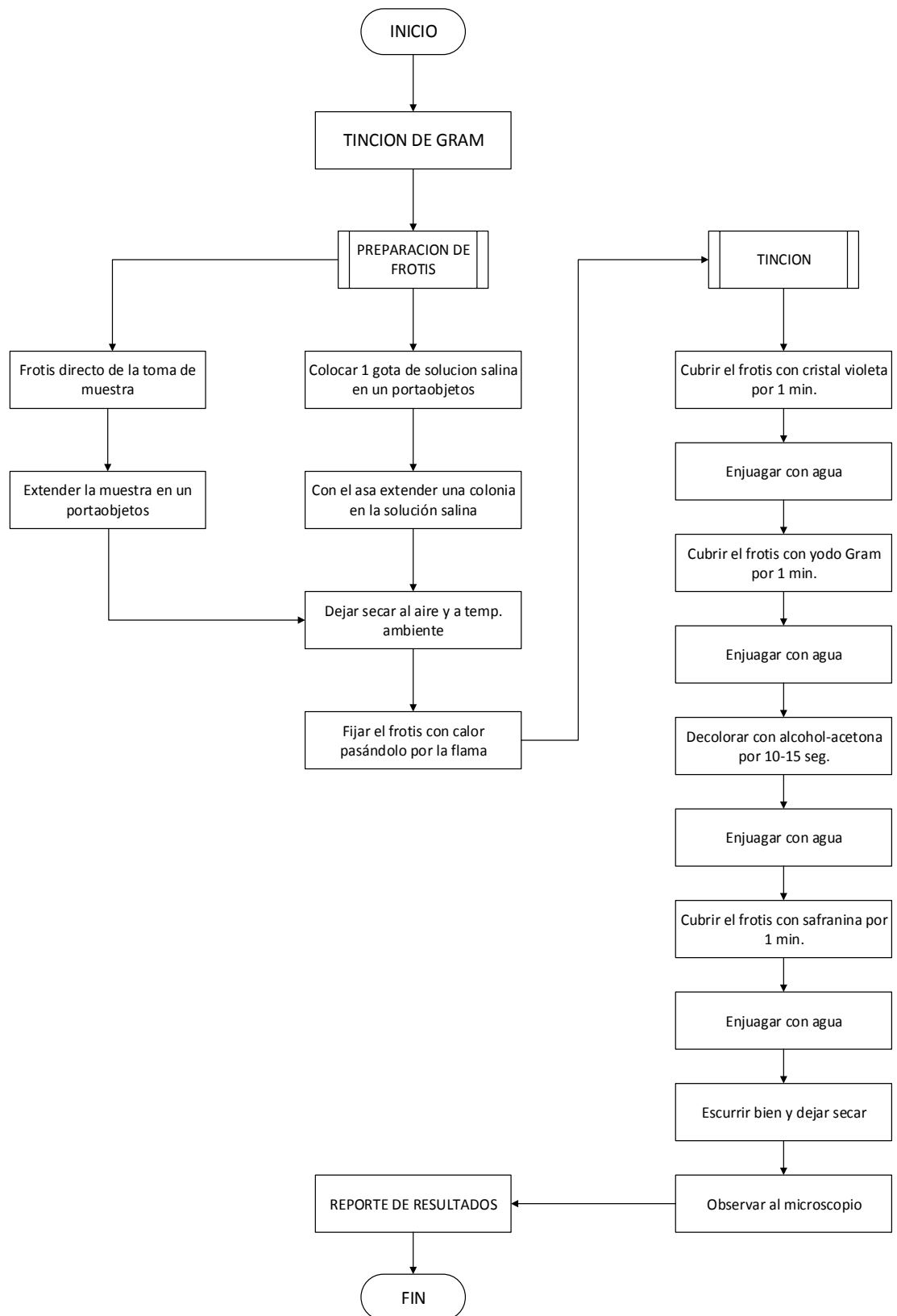
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APENDICE 2: MÉTODO DE ESTRIADO PARA AISLAMIENTO

Propósito del examen	Estandarizar el método para estriar las placas de agar utilizadas en los cultivos, obtener colonias aisladas y separar varios tipos de colonias de una misma muestra; y con esto lograr una identificación de los microorganismos causantes de infección.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	No aplica
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	No aplica
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	No aplica
Equipo y reactivos requeridos	• Mechero de Bunsen • Asa de nicromio • Placas de agar necesarias • Incubadora
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Pasos del procedimiento	CULTIVOS GENERALES: 1. Etiquetar las placas de agar con los datos del paciente (folio e iniciales) y el tipo de estudio a realizar. 2. Atemperar las placas de agar antes de la inoculación. 3. Inocular de acuerdo al tipo de muestra y en las placas establecidas en los procedimientos anteriormente descritos. 4. Depositar la muestra para inocular la placa en el primer cuadrante (1/4 de la placa), directamente del hisopo o jeringa, con el asa estéril se estría de lado a lado la descarga de la muestra en el primer cuadrante. 5. Esterilizar de nuevo el asa y girar ligeramente la placa para estriar el segundo cuadrante de lado a lado entrando al área del primer cuadrante de 3 a 5 veces y después se sigue estriando sin entrar al primer cuadrante hasta terminar el segundo cuadrante. 6. Repetir el punto anterior con el tercer y cuarto cuadrante. 7. Incubar las placas de agar en las condiciones necesarias			
Procedimientos control de calidad	Realizar la esterilización del asa de nicromio con la finalidad de distribuir la carga microbiana y obtener colonias aisladas.			
Interferencias	No realizar una buena asepsia o esterilización de los equipos y reactivos utilizados puede generar contaminación ambiental			
Principio del procedimiento para cálculo de resultados	No aplica			
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	DESARROLLO	No. DE COLONIAS EN AREA ESTRIADA		
		1er zona	2da zona	3er zona
	ESCASO	<10	----	----
	MODERADO	>10	<5	----
	ABUNDANTE	>10	>5	<5
	MUY ABUNDANTE	>10	>5	>5

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	El crecimiento de los microorganismos se reporta como escaso, moderado, abundante o muy abundante de acuerdo al cuadro anterior.
Fuentes de variación	No aplica



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

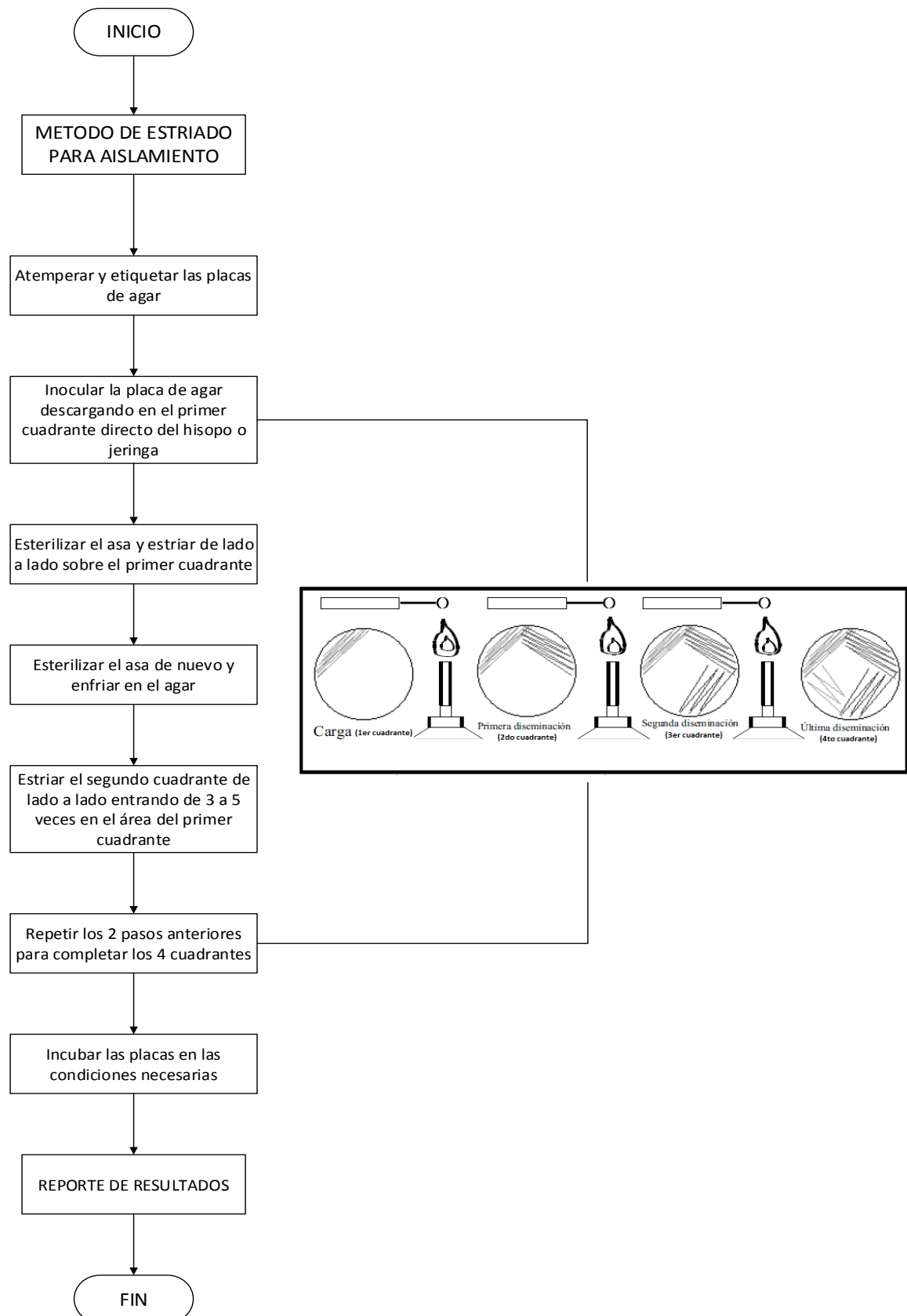
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APENDICE 3: MÉTODO DE ESTRÍA CERRADA PARA CUANTIFICACIÓN

Propósito del examen	Estandarizar el método para estriar las placas de agar utilizadas en los diferentes cultivos y poder realizar el conteo de las colonias determinando la concentración bacteriana de la muestra.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Los criterios de Kass nos ayudan a establecer la existencia o no de una infección en las vías urinarias, en función del número de unidades formadoras de colonias por ml de muestra (UFC/ml). Los criterios son los siguientes: un solo cultivo con más de 100,000 UFC/ml de un microorganismo indica una probabilidad de infección de 80%. Si dos cultivos presentan recuentos iguales o superiores a 100,000 UFC/ml del mismo germen la probabilidad de infección es del 96%. Si tres urocultivos con recuentos iguales o mayores a 100,000 UFC/ml la probabilidad es del 99%. De esta forma recuentos inferiores a 10,000 UFC/ml se consideran contaminación fisiológica y los recuentos entre 10,000 y 100,000 UFC/ml son considerados como sospechosos de infección.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Orina
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	No aplica
Equipo y reactivos requeridos	• Mechero de Bunsen • Asa de nicromio • Placas de agar necesarias • Incubadora
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Los hisopos y/o jeringas utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. La aguja utilizada es desechada en contenedor rojo (recolector para punzocortantes). Las secreciones son consideradas altamente contagiosas por lo que se deben descartar en contenedor rojo Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	ORINAS PARA CUANTIFICACION: 1. Etiquetar las placas de agar con los datos del paciente (folio e iniciales) y el tipo de estudio a realizar. 2. Inocular de acuerdo al tipo de muestra y en las placas establecidas. Todas las placas y tubos deben de estar a temperatura ambiente antes de la inoculación. 3. Esterilizar un asa calibrada de 0.001 ml en la flama del mechero. 4. Introducir el asa a la muestra de orina, previamente agitada por inversión y se obtiene la muestra llenando el arillo del asa. 5. Realizar la descarga en el agar sangre colocando la gota en un extremo de la placa y arrastrándola hacia el otro extremo en una línea recta, se gira la placa 90° y se realiza una estría cerrada en toda la placa atravesando la línea de descarga hasta estriar toda la placa, después se vuelve a girar 90° y se realiza de nuevo la estría cerrada en toda la placa de manera que la muestra quede distribuida uniformemente en toda la placa. Leer las placas a las primeras 24 hrs para realizar el conteo, si el crecimiento es negativo se debe reincubar las placas por 24 hrs más y realizar la lectura de nuevo. Si después de este tiempo no hay crecimiento se debe reportar el resultado como negativo.
Procedimientos control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.
Interferencias	No aplica
Principios del procedimiento para el cálculo de resultados	El número total de UFC/mL se calcula de la siguiente manera: $\text{UFC/mL} = \text{No. de colonias contadas} \times 1000$
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	El número de microorganismos contados se reporta como UFC/mL.
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Se considera un resultado positivo y con alta probabilidad de una infección un recuento de 100,000 o más UFC/ml, el aislamiento de un recuento menor a 10,000 UFC/ml se puede considerar como una contaminación de la muestra al igual que un aislamiento de 2 o más especies bacterianas. No procede a realizar antibiograma a los casos que no son significativos de acuerdo a los criterios de Kass.
Fuentes potenciales de variación	La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos.



MANUAL

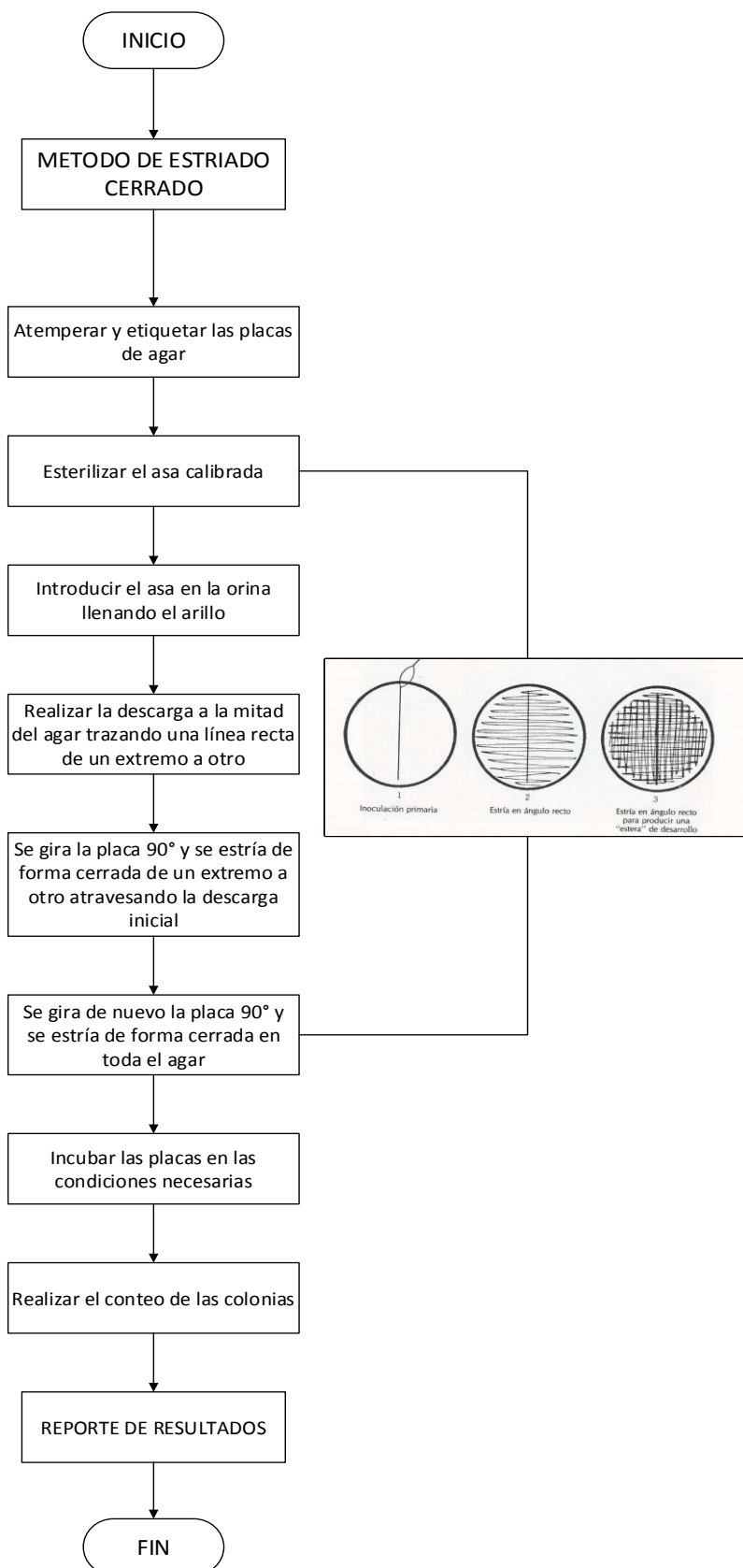
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APENDICE 4. ANTIBIOGRAMA

Propósito del examen	Determinar la sensibilidad o resistencia que tiene una cepa bacteriana a determinados antibióticos por medio de la técnica de difusión en agar.
Principio del procedimiento	Los fenómenos de transferencia genética y la aparición de mutantes en las bacterias, han dado lugar a la aparición de cepas resistentes a uno o varios antimicrobianos. Esto lleva a la necesidad de conocer el patrón de susceptibilidad de las cepas. Las pruebas de susceptibilidad in vitro pueden ser cuantitativas o semicuantitativas. Para propósitos prácticos, las pruebas semicuantitativas de difusión en agar proporcionan la información suficiente para servir de guía en el tratamiento. Esta prueba se fundamenta en que al colocar el disco impregnado con determinada cantidad de antimicrobiano, sobre un medio sólido inoculado con bacterias, el antimicrobiano difundirá formándose un gradiente de concentración, el cual inhibirá o permitirá el crecimiento de la bacteria. Una vez que se coloca el disco en contacto con el medio de cultivo, el antibiótico difundirá hacia el interior. La aparición de microorganismos resistentes a uno o varios de los agentes antimicrobianos tanto en la población general como en el ambiente hospitalario, hacen necesario conocer el patrón de sensibilidad a los antibióticos que tienen las cepas aisladas de casos.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	• Cepa bacteriana de cultivo puro y reciente
Preparación del paciente	• No aplica
Contenedor y aditivos	Tubo de ensayo con solución salina fisiológica e hisopo estéril.
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: 1. Incubadora 2. Mechero de Bunsen 3. Asa de nicromio

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	4. Encendedor 5. Tubo de ensaye 6. Hisopos estériles 7. Pinzas 8. Regla Reactivos: • Placas de agar Mueller-Hinton • Solución salina fisiológica • Sensidiscos con antibióticos • Nefelómetro de MacFarland 0.5
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Preparación de la suspensión: 1. Tocar con una asada 4 o 5 colonias aisladas del mismo tipo morfológico. 2. Inocular en 4 o 5 ml de solución salina fisiológica hasta obtener una turbidez ligera, la turbidez se debe ajustar comparando con un estándar de 0.5 MacFarland que corresponde aproximadamente a 1.5×10^8 microorganismos/ml. La suspensión no debe permanecer más de 20 min. antes de proceder a sembrar en la caja. Siembra: 1. Inocular el agar Mueller-Hinton utilizando un hisopo estéril, el cual se humedece con la suspensión, se quita el exceso de suspensión y se estría el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	superficie del agar y por último se realiza un barrido sobre el borde de la caja Petri y el agar. - Dejar secar el inóculo de 3 a 5 min. - Colocar los sensidiscos en el agar tomándolos con unas pinzas estériles, presionando ligeramente para asegurar el contacto con el agar. - Después de 5 min. de haber colocado los sensidiscos, invertir la caja e incubar a 37°C en aerobiosis durante 24 hrs. Identificación: - Medir los halos de inhibición por el fondo de la caja con luz reflejante. El punto final de todos los sistemas de lectura será hasta la completa inhibición del crecimiento determinada visualmente, ignorando colonias tenues o muy pequeñas que pueden ser observadas con minuciosidad. Las colonias grandes que aparecen en la zona clara de inhibición pueden ser variantes resistentes o bien un inóculo mezclado, por lo que se recomienda verificar la pureza de la cepa con una tinción de Gram - Las cepas se clasifican en Resistentes, Intermedias o Sensibles, dependiendo del diámetro del halo de inhibición de acuerdo al formato M100 de la CLSI.
Procedimientos de control de calidad	El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos.
Interferencias	No aplica
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	Las cepas se clasifican en: Resistentes, Intermedias o Sensibles de acuerdo al halo de inhibición.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalo reportable de los resultados del examen	
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	Cuando alguna cepa presente multiresistencia a los antibióticos probados
Interpretación clínica del laboratorio	Se considera resistente a una cepa cuando esta logra desarrollarse aun cuando se encuentra en un medio que contiene un antibiótico en específico y por lo tanto este antibiótico no se recomienda para su uso como tratamiento para una infección por dicha cepa bacteriana que logra resistir la acción antimicrobiana o se recomienda utilizar dosis más elevadas para incrementar su efecto. Por el contrario una cepa es sensible cuando cierto antibiótico logra inhibir su crecimiento en un medio donde este se encuentra por lo que se recomienda su uso como tratamiento para una infección contra dicha cepa bacteriana ya que esta es sensible a la acción del antibiótico logrando detener el desarrollo bacteriano.
Fuentes potenciales de variación	El equipo y material de laboratorio de microbiología es verificado con determinada frecuencia con el fin de verificar su funcionamiento adecuado. La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 38°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos. Almacenamiento inadecuado de los sensidiscos, del nefelómetro y de las placas de agar. Inoculo inadecuado por error en el ajuste de la densidad en la solución fisiológica Tiempo inadecuado entre la preparación del inoculo y la inoculación, en la aplicación de los sensidiscos después de la inoculación y en la incubación de la placa después de la colocación de los sensidiscos. Cultivos mixtos.



MANUAL

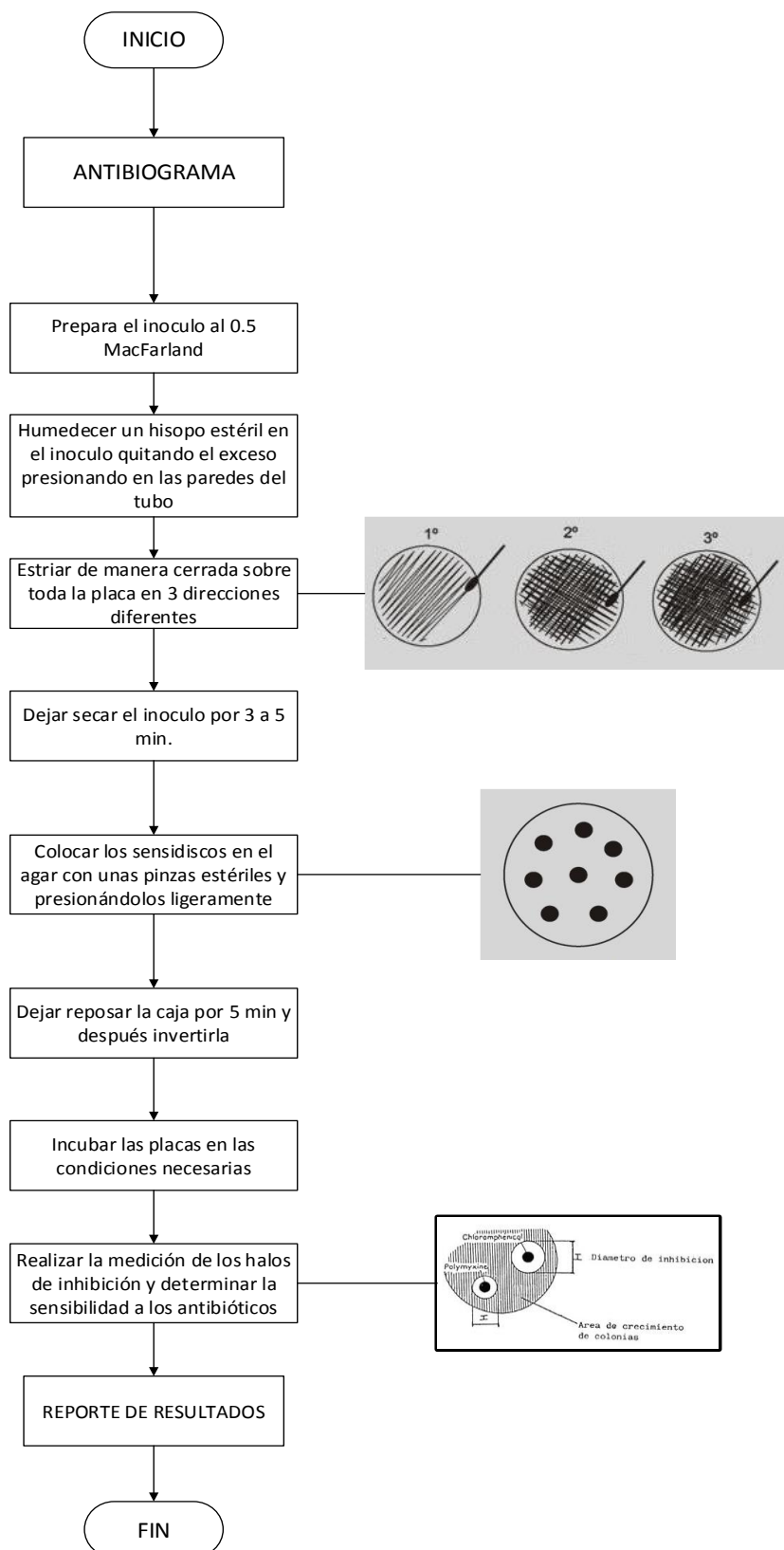
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
 11/Enero/2018

Fecha actualización:
 13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APENDICE 5: PRUEBAS BIOQUIMICAS

Propósito del examen	Determinar el género y especie bacteriano del microorganismo aislado en el cultivo de acuerdo al perfil bioquímico del mismo utilizando una serie de pruebas in vitro.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Con el objetivo de identificar el agente etiológico responsable del proceso infeccioso y para conocer las implicaciones patogénicas y patológicas, la evolución clínica, y aplicar una terapia antimicrobiana eficaz, un pilar fundamental en la práctica de la microbiología clínica lo constituye la asignación del género y especie a un aislamiento microbiano. La identificación bacteriana se realiza por medio de métodos convencionales, basados en las características fenotípicas las cuales son las características observables de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48h; a este grupo pertenecen la mayoría de las pruebas que detectan componentes metabólicos o aquellas que determinan la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia dada tras cultivo en medios de identificación que contienen el sustrato a metabolizar. Pruebas con lectura inmediata: • Catalasa. La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas. El principal objetivo de esta prueba es separar Micrococacceae y



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Staphylococcus spp (positiva) de Streptococcus spp. y Enterococcus spp. (negativa).

- **Oxidasa.** Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. El oxígeno actúa por tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones. Por lo general, el sistema citocromo oxidasa sólo se encuentra en las bacterias aerobias, algunas anaerobias facultativas y, excepcionalmente, en alguna microaerófila (*Vibrio fetus*), pero las bacterias anaerobias estrictas carecen de actividad oxidasa. Asimismo, la presencia de oxidasa va ligada a la producción de catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica.

Pruebas rápidas, con lectura en menos de 6h:

- **Hidrólisis del hipurato.** Demuestra la capacidad de algunas bacterias para hidrolizar el hipurato de sodio a ácido benzoico y glicina por la acción de la enzima hipuricasa. Como indicador de la reacción se utiliza ninhidrina. Esta prueba se utiliza en la identificación de *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Gardnerella vaginalis* y *Streptococcus agalactiae*.
- **β -galactosidasa (ONPG).** Esta prueba demuestra la presencia de la enzima β -galactosidasa. Hay bacterias que a pesar de poseer enzimas que hidrolizan la lactosa (β -galactosidasas), no pueden actuar sobre ella porque les faltan las enzimas extracelulares apropiadas (permeasas). Para conocer si un microorganismo es productor de β -galactosidasa, basta añadir el compuesto orgánico O-nitrofenil- β -D-galactopiranosido (ONPG) que es incoloro. Si la bacteria posee las enzimas hidrolizantes (β -galactosidasa), el



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

compuesto se transforma en ortonitrofenol, un derivado cromogénico de color amarillo. Todas las bacterias fermentadoras lentas de la lactosa son β -galactosidasa positivas.

- **Aminopeptidasa:** PYR. La L-pirrolidonil- β -naftilamida sirve como sustrato para la detección de pirrolidonil peptidasa. Se utiliza principalmente en la identificación de *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus* spp. También en la diferenciación de *Staphylococcus lugdunensis* de otros estafilocos coagulasa negativa.

Pruebas lentas, con lectura de 18 a 48h:

- **Ureasa.** Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por acción del enzima ureasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado. La prueba también se utiliza para diferenciar *Physobacter phenylpyruvicus* de *Moraxella* spp. *Helicobacter pylori* y *Brucella* spp. También hidrolizan la urea. Esta prueba puede ayudar en la identificación de *Cryptococcus* spp. que produce un resultado positivo después de una incubación prolongada.
- **Indol.** Mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano. Dicha liberación se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante el enzima triptofanasa.
- **Óxido-Fermentación.** Mediante esta prueba se va a determinar si la utilización de los hidratos de carbono por parte de un microorganismo se realiza por vía oxidativa (proceso aeróbico, presencia de oxígeno) o por vía fermentativa (proceso anaeróbico, ausencia de oxígeno).
- **Rojo de metilo.** El rojo de metilo es un indicador de pH. Actúa entre pH 4,2 y 6,3 variando desde rojo (pH 4,2) a amarillo (pH 6,3).



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Mediante esta prueba se comprueba la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa por la vía de la fermentación ácido-mixta. Se utiliza como parte de la identificación a nivel de especie de los bacilos entéricos gramnegativos.

- **Voges-Proskauer.** Permite observar si el microorganismo fermenta la glucosa por la vía butanodiólica. Si es así, se forma un producto intermedio (acetona) que forma un complejo de color rojizo con el α -naftol. Se usa en la identificación a nivel de especie de bacilos entéricos gramnegativos, *Aeromonas* spp., y *Vibrio* spp.
- **Agar hierro de Kligler.** Mediante esta prueba se puede determinar:
 - a. La capacidad de un microorganismo de metabolizar un hidrato de carbono específico (en este caso glucosa, lactosa o ambas) incorporado en un medio de crecimiento básico.
 - b. Producción o no de gases: CO_2 e H_2 como productos finales del metabolismo de los hidratos de carbono.
 - c. Producción de ácido sulfhídrico (SH_2). El medio de Kligler contiene como hidratos de carbono la glucosa y la lactosa. Existe otro medio, el triple sugar iron (TSI) que posee un tercer hidrato de carbono, la sacarosa.
- **Fermentación de azúcares.** Las bacterias anaerobias o anaerobias facultativas a menudo fermentan carbohidratos a ácidos orgánicos y gas (H_2 o CO_2). Estos pueden detectarse incluyendo en el medio un indicador de pH.
- **Hidrólisis de la esculina.** Hay microorganismos con capacidad de hidrolizar la esculina en esculetina y glucosa. La esculetina reacciona con una sal de hierro para formar un compuesto castaño oscuro o negro. El citrato férrico actúa como indicador de la hidrólisis de la esculina. Si se añade bilis al medio se inhibe el crecimiento de la mayoría de microorganismos del género *Streptococcus* pero no de la especie *Streptococcus bovis* y



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

tampoco inhibe el crecimiento de microorganismos de los géneros *Enterococcus* y *Listeria*. Coagulasa. Permite determinar la capacidad de coagular el plasma por la acción de la enzima coagulasa. Se utiliza para diferenciar *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies de *Staphylococcus*. La prueba de la coagulasa en tubo se puede leer tras incubación de 4h, pero si es negativa debe incubarse hasta 24h.

- **Fenilalanina-desaminasa.** Esta prueba determina la capacidad de un microorganismo para desaminar el aminoácido fenilalanina en ácido fenilpirúvico por la actividad enzimática de la fenilalanina desaminasa, con la consiguiente acidez resultante. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de los géneros *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* por lo que se utiliza para separar estos tres géneros de otros géneros de enterobacterias.
- **Descarboxilasas.** La descarboxilación es un proceso en el cual las descarboxilasas atacan el extremo carboxilo de los aminoácidos, formando la correspondiente amina. Los tres aminoácidos que se ensayan en la identificación de enterobacterias son arginina, lisina y ornitina. La descarboxilación de lisina y ornitina da cadaverina y putrescina (diaminas), mientras que la descarboxilación de arginina da citrulina por acción de una dehidrolasa. El proceso se produce en dos etapas: por fermentación de la glucosa se produce una acidificación del medio ($\text{pH} < 6,0$), apareciendo color amarillo. La acidificación es necesaria para que ocurra la descarboxilación. Este último proceso da lugar a la formación de las aminas que elevan el pH con el consiguiente viraje del indicador a color violeta. Esta prueba se utiliza tanto en la identificación de bacilos gramnegativos como de bacilos y cocos grampositivos.
- **Utilización de citrato.** Esta prueba sirve para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

medio. Entre las enterobacterias estas características se dan en los siguientes géneros: Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Citrobacter y algunas especies de Salmonella. Sin embargo, Escherichia, Shigella, Yersinia, Salmonella typhi y Salmonella paratyphi son incapaces de crecer utilizando citrato como única fuente de carbono.

- **Utilización de malonato.** Pone de manifiesto la capacidad que poseen determinadas bacterias de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono, con la consiguiente liberación del catión, que en presencia de iones agua produce alcalinidad. Solamente los microorganismos que pueden usar simultáneamente malonato de sodio como fuente de carbono y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno son capaces de ejercer una acción tampón produciendo hidróxido de sodio. El aumento de la alcalinidad resultante hace que el azul de bromotimol cambie de verde a azul. Los microorganismos malonato negativos que fermentan glucosa hacen que el indicador cambie de verde a amarillo. Se utiliza en la diferenciación de especies entre las Enterobacteriaceae. La mayoría de las especies de Enterobacter y Klebsiella utilizan malonato de sodio.
- **Prueba de CAMP.** Sirve principalmente para determinar la capacidad de un microorganismo para producir una proteína conocida como factor CAMP. La proteína produce un efecto sinérgico con la β -hemolisina de *S. aureus* sobre eritrocitos ovinos y bovinos que se observa como un fenómeno lítico en la intersección de los dos microorganismos cuando se siembran en proximidad. Como alternativa se puede utilizar el CAMP inverso. En esta prueba la hemólisis producida por algunos microorganismos se inhibe por la β hemolisina de *S. aureus* (por ejemplo, la producción de fosfolipasa D de *Arcanobacterium haemolyticum* o la fosfolipasa E de *Rhodococcus* spp.)



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	• Movilidad. Sirve para determinar si la bacteria tiene la capacidad de moverse por la acción de flagelos, se puede evaluar en los medios SIM y MIO Pruebas basadas en la resistencia a ciertas sustancias • Optoquina. El clorhidrato de etilhidroxicupreína (optoquina) inhibe a muy baja concentración (5 µg/ml o menos) el crecimiento de <i>S. pneumoniae</i>, mientras que no afecta al crecimiento de otros <i>Streptococcus</i> alfa-hemolíticos. • Bacitracina. Esta prueba puede utilizarse como diagnóstico presuntivo en la identificación de <i>Streptococcus</i> beta hemolítico del grupo A de Lancefield, ya que, a diferencia de la mayoría de los estreptococos, suelen ser sensibles a bajas concentraciones de bacitracina. • Novobiocina. Esta prueba se utiliza para diferenciar la especie de <i>S. saprophyticus</i> (resistente) de <i>S. epidermidis</i>.
Tipo de muestra	Cepas bacterianas aisladas de cultivos.
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	Tubos y placas con medios de cultivo
Equipo y reactivos requeridos	Equipo y material: 1. Incubadora 2. Mechero de Bunsen 3. Asa de nicromio 4. Asa de nicromio recta 5. Encendedor 6. Tubos de cultivo 7. Tubos de ensaye 8. Hisopos estériles 9. Pinzas 10. Portaobjetos 11. Gradillas Reactivos:



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

- Agar TSI
- Agar Kligler
- Agar LIA
- Agar Citrato de Simmons
- Agar Fenilalanina
- Agar Bilis Esculina
- Medio MIO
- Medio SIM
- Medio para oxido-fermentación
- Caldo de urea
- Caldo de malonato
- Caldo RM-VP
- Reactivo oxidasa (N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 1% solución acuosa)
- Reactivo para catalasa (H₂O₂ 30%)
- Sensidiscos de bacitracina
- Sensidiscos de optoquina
- Sensidiscos de novobiocina
- Discos para ONPG (orto-nitrofenil galactopiranosido)
- Discos para PYR (pirrolidonil-β-naftilamida)
- Discos para hidrolisis del hipurato
- Cloruro férrico 10%
- Reactivo de Erlich
- Rojo de metilo 0.04%
- KOH 40%
- Alfa-naftol 5% en solución alcohólica
- Ninhidrina
- Solución de p-dimetilamino cinamaldehído
- Placas de agar sangre
- Solución salina estéril

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	• Aceite mineral estéril
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guante, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Todo el material desechable utilizado para las pruebas son considerados infectocontagiosos. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimientos de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Los medios de cultivo que se preparan en el laboratorio, se debe seguir las indicaciones de los proveedores para su elaboración. Pruebas rápidas. Oxidasa: 1. Seleccionar una colonia totalmente aislada en las placas de agar Sangre, TSA o medios donde se desarrolle bien la cepa evitando el uso de medios que contengan grandes cantidades de carbohidratos como el agar Mac Conkey. 2. Tomar la colonia con el asa previamente estéril y colocarla en un pedazo de papel filtro. 3. Romper la ampolleta del reactivo de oxidasa y colocar una gota del reactivo sobre la colonia en el papel filtro. 4. Observar si hay algún cambio de coloración de la colonia. Catalasa: 1. Seleccionar una colonia totalmente aislada en las placas de agar evitando el uso del agar Sangre ya que los eritrocitos pueden interferir con la prueba. 2. Colocar una gota del reactivo H₂O₂ 30% sobre un portaobjetos.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación:
11/Enero/2018
Fecha actualización:
13/Mayo/2019

3. Tomar la colonia con el asa previamente estéril y colocarla en la gota de peróxido.
4. Observar si hay alguna formación de burbujas.

Pruebas lentas de un periodo de incubación de 6 hrs.

Hidrolisis del hipurato

1. Colocar 0.4 ml de agua destilada en un tubo de ensaye limpio y estéril y adicionar un disco de hipurato.
2. Tomar una asada de la colonia aislada y emulsionar en el agua del tubo agitando para formar una suspensión uniforme.
3. Incubar el tubo por 2 hrs. a una temperatura entre 35-37°C.
4. Añadir 5 gotas de ninhidrina y agitar suavemente.
5. Reincubar el tubo por 15 min a la misma temperatura anterior.
6. Observar e interpretar los resultados.

ONPG

1. Realizar una suspensión densa en un tubo de ensaye limpio y estéril con 0.2 ml de solución salina estéril con una de las colonias aisladas a probar.
2. Adicionar un disco de ONPG al tubo e incubar por 30 min a una temperatura entre 35-37°C (se debe incubar hasta por 4 hrs. antes de descartar una reacción como negativa).
3. Observar e interpretar los resultados.

PYR

1. Realizar una suspensión densa en un tubo de ensaye limpio y estéril con 0.05 ml de solución salina estéril con una de las colonias aisladas a probar.
2. Adicionar un disco de PYR al tubo e incubar por 30 min a una temperatura entre 35-37°C (cuando se utiliza para diferenciar Staphylococcus se debe incubar durante 2 hrs.).
3. Agregar una gota de solución de p-dimetilamino cinamaldehído.
4. Dejar reposar por 5 min a temperatura ambiente.
5. Observar e interpretar los resultados.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Pruebas lentas de un periodo de incubación de 18 a 24 hrs.

1. Seleccionar una colonia totalmente aislada en las placas de agar para ser probada por las pruebas bioquímicas, en caso de no ser suficiente una sola colonia se debe seleccionar otra colonia o más, según sea necesario, de las mismas características morfológicas para asegurarse que se trate de la misma cepa.

2. Tomar la colonia seleccionada con una asa previamente esterilizada y sembrar de la siguiente manera.

3. Medios de cultivo con agar inclinado:

Agar TSI, Kligler y LIA: sembrar por medio de picadura en el fondo y estriado en la superficie del pico de flauta

Agar FeA, Citrato de Simmons y Bilis esculina: sembrar solo en la superficie del pico de flauta.

4. **Medios semi-sólidos en tubo MIO y SIM:** sembrar solo por picadura hasta el fondo del medio tratando de realizar la picadura lo más derecho posible para poder apreciar correctamente la movilidad.

5. **Medios líquidos, caldo de urea, caldo de malonato, caldo RM-VP:** sembrar introduciendo el asa en el medio y agitando varias veces

6. Prueba de camp.

En una placa de agar Sangre colocar una estría en medio de la caja de un extremo a otro con una cepa de referencia de *S. aureus*. Tomar una asada de una colonia aislada de la cepa a probar y colocar una estría en la misma placa de agar Sangre pero de forma perpendicular a la estría de *S. aureus* sin llegar a tocarla.

7. Incubar las pruebas anteriormente durante un periodo de 24 hrs. a una temperatura de 35-37°C

8. Observar el desarrollo del microorganismo en los medios e interpretar las pruebas bioquímicas

9. Al agar FEA adicionar 4 gotas de cloruro férrico y observar si se presenta una coloración verde



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación: MAN-MIC-01
Versión: 1
Fecha creación: 11/Enero/2018
Fecha actualización: 13/Mayo/2019

10. Al medio MIO y SIM adicionar 5 gotas del reactivo de Ehrlich y observar la presencia de una coloración rosa o rojiza encima del medio
11. Al medio RM adicionar 1 gota de rojo de metilo y observar el vire del indicador
12. Al medio VP adicionar 3 gotas de KOH y 4 gotas de Alfa-naftol, esperar por lo menos 25 min para observar si se presenta una coloración rosada o salmón en el caldo.

Pruebas basadas en la resistencia a ciertas sustancias

Optoquina, Bacitracina y Novobiocina

1. Seleccionar una colonia totalmente aislada en las placas de agar para ser probada por las sustancias impregnadas en los sensidiscos.
2. Tomar la colonia seleccionada con una asa previamente esterilizada y sembrar de preferencia en agar Sangre en forma de estría cerrada en un cuadro de aproximadamente 1.5 X 1.5 cm.
3. Tomar un sensidisco a probar, colocarlo justamente en el centro del cuadro inoculado por la cepa y presionar ligeramente sobre el agar.
4. Incubar por 24 hrs. a una temperatura de 37°C.
5. Determinar si la cepa es sensible o resistente a la sustancia probada observando el halo de inhibición en el agar.

Procedimientos de control de calidad

El laboratorio cuenta con cepas de referencia que se conservan adecuadamente y sirven para verificar la funcionalidad de los medios de cultivo y pruebas de susceptibilidad. Antes de utilizar cualquier medio de cultivo o reactivo se realiza una inspección visual, y en caso de deficiencias en el aspecto, reactividad química o esterilidad se debe desechar el lote. Las pruebas de funcionalidad con cepas de referencia se realizan cada vez que se tiene sospecha de la eficiencia de los medios y/o reactivos, se identifica y documenta cada nuevo lote de reactivos y medios de cultivo preparados y/o recibidos por proveedores.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	Se deben de utilizar cepas control negativas y positivas para cada una de las pruebas bioquímicas, las cuales se corren como si fueran una muestra más para asegurarse que el procedimiento realizado es correcto
Interferencias	No aplica
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados	No aplica
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	Agar TSI/Kligler • Pico alcalino/fondo ácido (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa. • Pico ácido/fondo ácido (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa. • Pico alcalino/fondo alcalino (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares. • La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas. • El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico. Agar LIA • Pico alcalino/fondo ácido (pico violeta/fondo amarillo): el microorganismo no descarboxila la lisina. • Pico alcalino/fondo alcalino (pico violeta/fondo violeta): el microorganismo descarboxila la lisina. • Pico ácido/fondo ácido (pico rojizo/fondo amarillo): el microorganismo desamina la lisina. • La presencia de burbujas, o ruptura del medio de cultivo, indica que el microorganismo produce gas. • El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

Agar FeA

- Desanimación positiva: desarrollo de color verde pálido a intenso en el pico de flauta y en el líquido de condensación.
- Desanimación negativa: sin cambios de color. El medio permanece amarillo debido al color del reactivo cloruro férrico.

Agar citrato se Simmons

- Positivo: crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad.
- Negativo: el medio permanece de color verde.

Medio SIM

- Cepas móviles: producen turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra.
- Cepas inmóviles: el crecimiento se observa solamente en la línea de siembra.
- Cepas H₂S positivas: ennegrecimiento a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.
- Cepas H₂S negativas: el medio permanece sin cambio de color.
- Cepas indol positivas: desarrollo de color rojo luego de agregar el reactivo de Erlich.
- Cepas indol negativas: sin cambio de color o amarillo.

Medio MIO

- Cepas móviles: producen turbidez del medio, que se extiende más allá de la línea de siembra.
- Cepas inmóviles: el crecimiento se observa solamente en la línea de siembra.
- Ornitina descarboxilasa positiva: medio color púrpura.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

- Ornitina descarboxilasa negativa: medio de color amarillo, a veces se puede desarrollar un color violáceo en la superficie del medio.
- Cepas indol positivas: desarrollo de color rojo luego de agregar el reactivo de Erlich.
- Cepas indol negativas: sin cambio de color o amarillo.

Caldo de urea

- Ureasa positiva: medio de color rosa intenso o rojizo.
- Ureasa negativa: el medio permanece de color anaranjado o amarillo.

Caldo de malonato

- Positivo: crecimiento y color azul en el medio (reacción alcalina).
- Negativo: el medio permanece de color verde a amarillo.

Caldo RM-VP

Prueba del rojo de metilo:

- Positivo: color rojo.
- Negativo: color amarillo.

Prueba de Voges Proskauer

- Positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo.
- Negativo: ausencia de color rojo.

Prueba de catalasa

- Positivo: presencia de burbujas
- Negativo: sin presencia de burbujas

Prueba de oxidasa



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019

- Positivo: desarrollo de color purpura dentro de los primeros 30 seg
- Negativo: sin desarrollo de color o desarrollo de un ligero color rosa o purpura después de 30 seg.

Hidrolisis del hipurato

- Positivo: desarrollo de color purpura o azul en la solución
- Negativo: sin desarrollo de color o desarrollo de un ligero color rosa o purpura después de 30 seg.

ONPG

- Positivo: desarrollo de color amarillo en la suspensión.
- Negativo: sin cambio de color en la suspensión.

PYR

- Positivo: desarrollo de color rosa-rojo en el disco.
- Negativo: la suspensión y el disco permanecen incoloros o de color amarillo.

Prueba de CAMP

- Positivo: desarrollo sinergismo hemolítico entre las dos bacterias que se aprecia como una punta de flecha.
- Negativo: no se observa sinergismo hemolítico o se observa una inhibición de la hemolisis.

Pruebas de sensibilidad a ciertas sustancias

- Resistente: se observa crecimiento en todo el cuadro estriado sin presentar ningún halo de inhibición.
- Sensible: se observa un halo de inhibición alrededor del sensidisco probado.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	De acuerdo al perfil bioquímico obtenido en las pruebas se determinara el género y si es posible la especie de la bacteria mediante tablas de identificación las cuales establecen el perfil bioquímico de cada género y especie bacterianos. La bacteria aislada se debe de reportar bajo los parámetros de género y especie
Fuentes potenciales de variación	El equipo y material de laboratorio de microbiología es verificado con determinada frecuencia con el fin de verificar su funcionamiento adecuado. La temperatura de la incubadora debe permanecer entre 35° y 37°C, ya que puede ser una fuente de variabilidad en el crecimiento de los microorganismos. Almacenamiento inadecuado de los sensidiscos, los reactivos y de las pruebas bioquímicas.



MANUAL

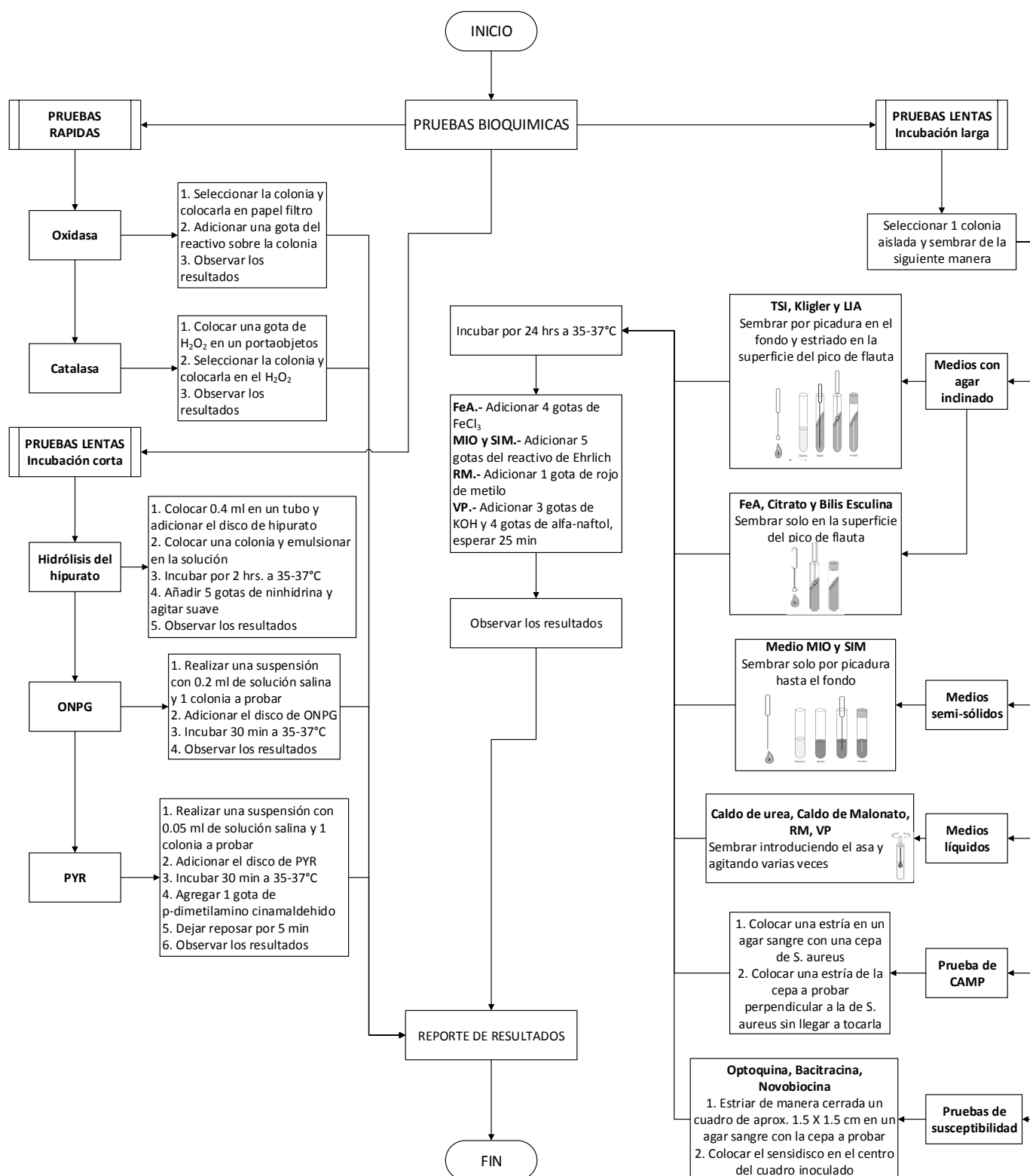
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación:
		MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación:
		11/Enero/2018
		Fecha actualización:
		13/Mayo/2019

APÉNDICE 6: TINCIÓN DE ZIEHL-NEELEN

Propósito del examen	Detectar el tipo de envoltura celular que presentan las bacterias del genero Mycobacterium (principalmente) y otras bacterias acido-alcohol resistentes (BAAR) en las muestras clínicas por el método de Ziehl-Neelsen.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	Debido a que la pared celular de algunas bacterias como lo son las Micobacterias, entre otras, están provistas de un alto contenido de lípidos y ácidos micólicos, les confieren características únicas en la fijación del colorante de carbol fucsina tan fuertemente, que resisten la decoloración con alcohol acido. Estas propiedades acido resistentes de las micobacterias empleando la tinción de Ziehl-Neelsen permiten un diagnóstico rápido y presuntivo para detectar el bacilo de la tuberculosis. El colorante de carbol fucsina es una solución concentrada que puede utilizarse por dos procedimientos de uso común: el de Ziehl-Neelsen o tinción caliente, recomendable para esputo, orina y el de Kinyoun o tinción fría utilizado para tejidos y muestras de heces. En el departamento de microbiología se utiliza el método de tinción caliente.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Frotis fijado al calor
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	Portaobjetos
Equipo y reactivos requeridos	• Mechero de Bunsen • Microscopio • Aceite de inmersión • Portaobjetos • Fucsina fenicada (Ziehl-Neelsen)

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

	• Alcohol-acido • Azul de metileno • Tarja de tinciones • Agua de la llave
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Los hisopos utilizados para la muestra son desechados en bolsa roja. Los cultivos generados en el procedimiento son considerados biológico- infecciosos y deben depositarse en bolsa roja, previamente identificada como cepas y cultivos. (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Procedimiento de calibración	No aplica
Pasos del procedimiento	Tinción de Ziehl-Neelsen 1. Colocar el frotis en un puente de tinción resistente al calor. 2. Cubrir totalmente toda la superficie del portaobjetos con la Fuscina fenicada, a continuación con la llama de una torunda embebida de alcohol calentar suavemente la laminilla por debajo con movimiento de vaivén, hasta el desprendimiento de vapores, evitando el calentamiento excesivo y la ebullición, realizar este procedimiento por 5 min sin dejar secar la laminilla reponiendo la Fuscina. 3. Después se enjuaga con abundante agua para retirar todo el exceso de Fuscina, se escurre todo el exceso de agua. 4. Después se cubre la laminilla con el decolorante alcohol-ácido y se deja decolorar por 1-3 minutos. 5. Se enjuaga con abundante agua y se escurre bien. 6. Después se cubre toda la laminilla con el colorante de contraste azul de metileno y se deja por 1 min. 7. Se enjuaga con agua se escurre bien y se deja secar a temperatura ambiente.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
 11/Enero/2018

Fecha actualización:
 13/Mayo/2019

	8. Observar la tinción en el microscopio con el objetivo de 100X utilizando el aceite de inmersión.	
Procedimientos de control de calidad	Control positivo - Realizar la tinción de Ziehl-Neelsen a una cepa de Mycobacterium tuberculosis ATCC 25177 control positivo y una cepa de Escherichia coli ATCC 25922 control negativo. - Observar en el microscopio los bacilos Acido-alcohol resistente. - Anotar el resultado del control en la respectiva bitácora. Control negativo - Realizar la tinción de Ziehl-Neelsen a una cepa de Escherichia coli previamente identificada e incubada en agar por 24 horas. - Observar en el microscopio los bacilos No acido-alcohol resistente - Anotar el resultado del control en la respectiva bitácora.	
Interferencias	No aplica	
Principio del procedimiento para el cálculo de resultados	Calculo de BAAR: Calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, sumando el total de BAAR contados y se divide entre el número de campos observados Promedio de BAAR = (Total de BAAR contados) / (# de campos observados)	
Intervalo de referencia biológica o valores de decisión clínica	Resultados de examen microscópico	Informe de resultados
	No se encuentran BAAR en los 300 campos observados	Negativo (-)
	Se observa menos de 1 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
	Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
	Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Intervalos reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	Microorganismos Acido-alcohol resistente: color rojo brillante o rosado Microorganismos No Acido-alcohol resistente: color azul
Fuentes potenciales de variación	Almacenamiento inadecuado de los reactivos. El tiempo de acción de cada colorante debe ser exacto por lo que se debe utilizar un cronometro calibrado. Cepas control inadecuadas.



MANUAL

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:

MAN-MIC-01

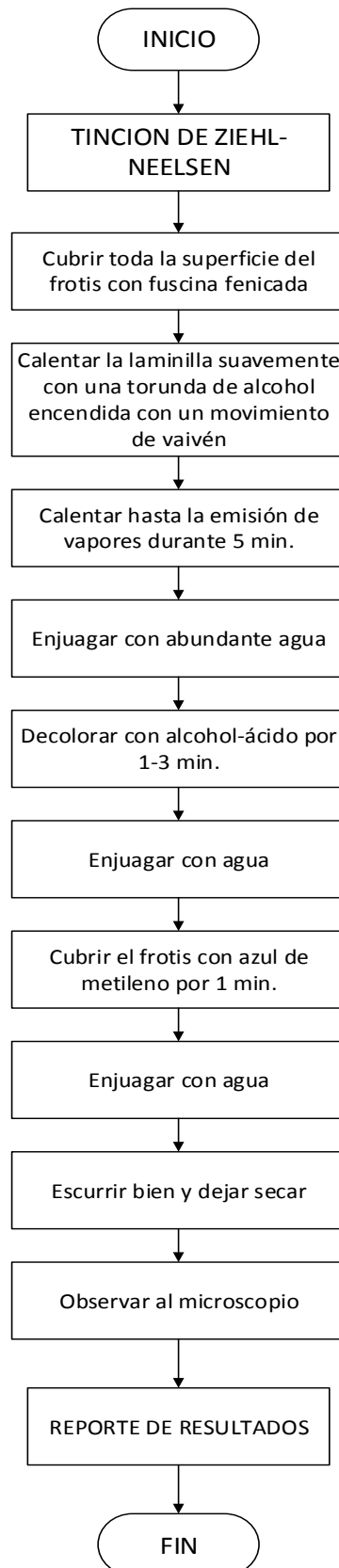
Versión: 1

Fecha creación:

11/Enero/2018

Fecha actualización:

13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

APÉNDICE 7: TINCIÓN DIFF QUICK

Propósito del examen	Observar la morfología de una muestra de semen para determinar el porcentaje de normalidades, anormalidades y otras células presentes en la muestra.
Principio y método del procedimiento utilizado para el examen	El kit de tinción Diff-Quik se compone de 3 soluciones que permiten una tinción rápida de las muestras de esperma para su análisis morfológico.
Características de desempeño	No aplica
Tipo de muestra	Frotis fijado
Preparación del paciente	No aplica
Tipo de contenedor y aditivos	Portaobjetos
Equipo y reactivos requeridos	• Microscopio • Aceite de inmersión • Portaobjetos • Kit de tinción Diff Quick • Tarja de tinciones • Agua de la llave
Controles ambientales y de seguridad	El personal del área debe traer bata de laboratorio, guantes, lentes de seguridad y cubre bocas cuando sean manejadas las muestras microbiológicas. Las muestras de semen son consideradas infectocontagiosas por lo que todos los instrumentos deben descartarse como RPBI (Ref. MAN-SH-01, MAN-RPBI-01)
Pasos del procedimiento	Tinción Diff Quick Tanto la fijación del frotis como la tinción del mismo se deben de realizar de acuerdo al inserto del reactivo el cual puede variar dependiendo de cada proveedor.
Procedimientos de control de calidad	Se debe realizar en paralelo una laminilla control para verificar la correcta función del kit de tinciones.

	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

Interferencias	No aplica
Principio del procedimiento para cálculo de resultados	No aplica
Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica	Morfología: Se reporta en porcentaje de normales y anormales, en los anormales además se reporta el porcentaje de los diferentes tipos de anormalidades que se presentan.
Intervalo reportable de los resultados del examen	No aplica
Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos	No aplica
Valores de alerta o críticos	No aplica
Interpretación clínica del laboratorio	La cabeza es teñida de un color azul pálido en la región acrosomal y de color azul fuerte en la región post-acrosomal, la pieza media puede observarse de color rojo de diferentes tonalidades y la cola se tiñe de color azul o rojizo.
Fuentes potenciales de variación	Almacenamiento inadecuado de los reactivos El tiempo de acción de cada colorante debe ser exacto por lo que se debe utilizar un cronometro calibrado. Laminillas control adecuadas.



MANUAL

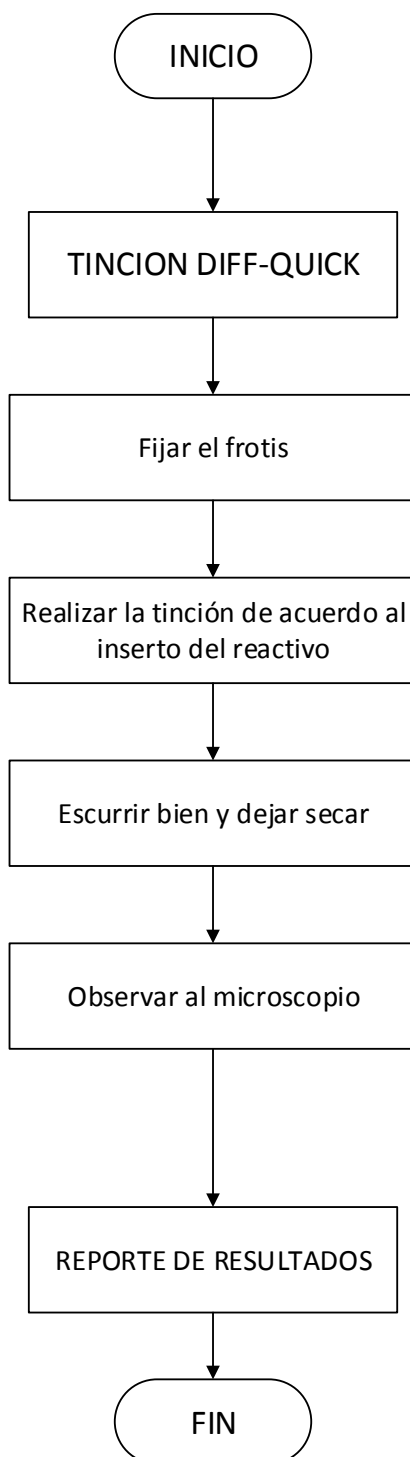
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Identificación:
MAN-MIC-01

Versión: 1

Fecha creación:
11/Enero/2018

Fecha actualización:
13/Mayo/2019



	MANUAL MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	Identificación: MAN-MIC-01
		Versión: 1
		Fecha creación: 11/Enero/2018
		Fecha actualización: 13/Mayo/2019

HISTORIAL DE REVISIONES

No. Revisión	No. Versión	Descripción de la Revisión	Fecha de Revisión
0	0	Liberado	11/Enero/2018
1	1	Se anexaron las especificaciones de preparación del paciente, tipo de contenedor y aditivos, instrucciones para determinar los resultados cuantitativos, se acomodó el manual conforme los requerimientos en el apartado 5.5.3 de la norma NMX-EC-15189-IMNC-2015	13/Mayo/2019