

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07

Revisión: 23

Página: 1 de 14

Fecha de emisión: 5/Enero/2009

Fecha de modificación: 14/Marzo/2024

1.-OBJETIVO

Analizar muestras biológicas para análisis microbiológicos en las condiciones adecuadas para su procesamiento analítico.

2.- ALCANCE

Aplica a todas las muestras biológicas tomadas y recepcionadas en Laboratorio de Análisis Clínicos de Servicio a la Comunidad de la Facultad de Química y módulo Fénix para su análisis microbiológico, según la orden médica de los usuarios.

3.- DESCRIPCIÓN DE LA OPERACIÓN

Es importante el uso de guantes, bata, cubrebocas y lentes de seguridad en el momento de la toma y procesamiento de las muestras. Se realizará la toma según el instructivo de condiciones y procedimiento para la toma de muestras biológicas en el laboratorio de análisis clínicos con código I-FQUI-LAC-01.

Se realizará un cuestionario de toma de muestra para cultivos con código F-FQUI-LAC-87, además se mantendrá al día, la bitácora de Microbiología con código F-FQUI-LAC-49, se transcribirán los resultados que se realicen de forma manual al formato de cultivos con código FQUI-LAC-11, los cultivos que se realicen de forma automatizada estarán impresos en el informe clínico F-QUI-LAC-114 y luego se entregará a recepción la bitácora de relación de los estudios entregados por el área de microbiología con código F-FQUI-LAC-82, se llevará la hoja estadística de estudios con código F-FQUI-LAC-48, la bitácora de mantenimiento y uso diario del Vitek 2 compact F-QUI-LAC-115, la bitácora de mantenimiento y uso diario del densichek plus F-QUI-LAC-116, la bitácora de mantenimiento y uso diario del autoclave F-FQUI-LAC-61, la bitácora de mantenimiento y uso diario del mechero de bunsen F-FQUI-LAC-100, la bitácora de mantenimiento y uso diario de microscopios F-FQUI-LAC-103, la bitácora de mantenimiento y uso diario de incubadora bacteriológica F-FQUI-LAC-99, la bitácora de mantenimiento y uso diario de la balanza F-FQUI-LAC-102, la bitácora de mantenimiento y uso diario de placa de calentamiento F-FQUI-LAC-104 y la bitácora de mantenimiento y uso diario de micropipetas F-FQUI-LAC-107. Así como el formato para el registro diario de temperatura de la estufa F-FQUI-LAC-19 y el formato para el registro diario de temperatura del refrigerador F-FQUI-LAC-24. Se llenará el formato de mantenimiento y uso diario de centrifuga F-FQUI-LAC-110. Las muestras son aceptadas si cumplen las condiciones que se describen en cada estudio y las tomadas con hisopos estériles deben estar en medio de transporte. Si las muestras no cumplieran con las condiciones deben ser rechazadas.

Una vez sembradas las muestras que están en medios de transporte serán guardadas en el refrigerador hasta que los resultados sean reportados.

Las muestras de heces fecales y orina serán desechadas el mismo día que se siembren.

Mensualmente se correrá un control externo de PACAL para el área de Bacteriología.

Se llena el formato F-FQUI-LAC-52 control y preservación de Reactivos de manera mensual.

PROCESAMIENTO DE LOS CULTIVOS BACTERIOLÓGICOS DESPUÉS DE LAS TOMAS DE MUESTRAS

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07

Revisión: 23

Página: 2 de 14

Fecha de emisión: 5/Enero/2009

Fecha de modificación: 14/Marzo/2024

- 1.-Incubar los medios a 35-37°C y observar el crecimiento a las 24 h.
- 2.-Luego de haber transcurrido las 24 h se procede a identificar el o los microorganismos patógenos presentes en la muestra y realizar el antibiograma con el equipo automatizado Vitek 2 compact.
- 3.-Si el equipo no puede identificar el o los microorganismos patógenos se procederá a realizar la identificación de manera manual, según los esquemas de identificación, una vez realizada las pruebas correspondientes, se incuban a 35-37 °C por 24 h, se leen las pruebas realizadas y se identifica el o los microorganismos.
- 4.-Los resultados del equipo Vitek 2 compact estarán impresos en el informe clínico (F-FQUI-LAC-114) y los resultados realizados de manera manual se reportarán en la bitácora de Microbiología (F-FQUI-LAC-49), luego se transcribirán en el formato CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).
- 5.-Capturar los resultados en el software de laboratorio.

CULTIVO DE EXUDADO FARINGEO

TÉCNICA

- 1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO DE EXUDADO NASAL

TÉCNICA

- 1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO DE EXUDADO VAGINAL

TÉCNICA

- 1.-Una vez realizada la toma se realiza el examen en fresco, al tubo con solución salina, se le quita el hisopo y se centrifuga a 1,890 r.p.m. durante 5 min, luego se elimina el sobrenadante para colocar el sedimento en un portaobjetos y observar al microscopio con el objetivo de 40X. Se observa varios campos para buscar *Trichomonas vaginalis*, si no se encuentra se reporta como: no se observaron parásitos.
- 2.-Al frotis se le realiza la tinción de Gram y una vez seca la muestra, se coloca una gota de inmersión y se observa al microscopio con el objetivo de 100X para buscar células claves.
- 3.-Sembrar en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO DE EXUDADO URETRAL

TÉCNICA

- 1.- Una vez realizada la toma se realiza el examen en fresco, al tubo con solución salina, se le quita el hisopo y se centrifuga a 1,890 r.p.m. durante 5 min, luego se elimina el sobrenadante para colocar el sedimento en un portaobjetos y observar al microscopio con el objetivo de 40X. Se observa varios campos para buscar *Trichomonas vaginalis*, si no se encuentra se reporta como: no se observaron parásitos.
- 2.-Al frotis se le realiza la tinción de Gram y una vez seca la muestra, se coloca una gota de inmersión y se observa al microscopio con el objetivo de 100X para buscar polimorfonucleares con bacterias diplococos gramnegativos.
- 3.- Sembrar en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO DE ESPERMA (ESPERMOCULTIVO)

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología		
Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 3 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

TÉCNICA

1.-Sembrar en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

UROCULTIVO

(Orina obtenida por "Chorro medio")

TÉCNICA

- 1.-La muestra debe ser sembrada máximo 2 horas después de su recolección.
- 2.-Utilizar asa calibrada de platino color negra de 0.01mL (1 colonia = 100 UFC/mL) o asa calibrada de platino color rojo 0.001mL (1 colonia = 1,000 UFC/mL) Anexo I.
- 3.-Homogenizar bien la orina.
- 4.-Sembrar en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).
- 5.-Esterilizar el asa de platino y enfriarla. Para enfriar el asa se sumerge verticalmente y se retira asegurándose llevar una gota de orina para luego desecharla, esto se realiza 3 veces y la cuarta se utiliza para sembrar en los medios de cultivo.
- 6.-Extender la orina contenida en el asa a lo largo de un diámetro de la placa. Extender el inóculo con la misma asa en estrías muy apretadas perpendicularmente a la primera estría y luego perpendicularmente a la segunda con múltiples pasadas del asa, que se superpongan, hasta cubrir toda la placa.
- 7.-Incubar las placas en posición invertida 24 h a 35-37 °C,

Nota. - Si no hay crecimiento a las 24 h dejar incubar 24 h más para considerarlo como negativo.

OBSERVACIONES

Un urocultivo con un crecimiento \geq a 3 microorganismos de diferentes morfologías, se considera una muestra contaminada y se solicita nueva muestra de orina al paciente para repetir el estudio.

COPROCULTIVO

TÉCNICA

1.-Se realiza una siembra directa de la muestra fecal en los medios correspondientes (Tabla 1) y se incuban los medios durante 24 h a 37°C.

Nota: Al caldo tetratonato antes de inocularle la muestra, se le agrega 200µL de yodo para activarlo.

2.-Después de 24h resembrar el caldo de tetratonato en los medios correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO DE LESION (HERIDA).

TÉCNICA

1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

HEMOCULTIVO

TÉCNICA

1.-Incubar los frascos de hemocultivo a 35-37°C durante 10 días.

2.-Resembrar el medio líquido de los frascos de hemocultivo en los medios sólidos correspondientes (Tabla 1).

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología		
Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 4 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

Nota: Los días de procesamiento del hemocultivo son 10, se realiza la primera resiembra a las 24 h, 48 h, 72 h, posteriormente se sigue incubando los frascos y cuando presente turbidez se siembra. Sino llegara a presentar turbidez al 8 día se resiembra para darlo como negativo.

CULTIVO DE EXPECTORACIÓN

TÉCNICA

1.-Una vez recolectada la muestra por el usuario, se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO OFTÁLMICO(LAGRIMAL)

TÉCNICA

1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

CULTIVO OTICO

TÉCNICA

1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).

PROCESAMIENTO DE LOS CULTIVOS MICOLÓGICOS DE PIEL, UÑAS, CABELLO, LESIÓN (HERIDA), EXPECTORACIÓN, EXUDADO FARINGEO.

TÉCNICA

- 1.-Una vez hecha la toma se realiza la siembra en los medios de cultivo correspondientes (Tabla 1).
- 2.-Una caja se deja incubar por 15 días a temperatura ambiente y la otra a 35-37°C durante 48 h.
- 3.- En el momento que se observe crecimiento y si es una levadura o la colonia es de un hongo que puede identificarse con la tarjeta de levaduras, se procede a su identificación y a realizar el antibiograma con el equipo automatizado Vitek 2 compact.
- 4.-Si el equipo no puede identificar el hongo se procederá a realizar la identificación de manera manual según su morfología y tablas de identificación.
- 5.-Los resultados del equipo Vitek 2 compact estarán impresos en el informe clínico (F-FQUI-LAC-114) y los resultados realizados de manera manual se reportarán en la bitácora de Microbiología (F-FQUI-LAC-49), luego se transcribirán en el formato CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).
- 6.-Capturar los resultados en el software de laboratorio.

BACTERIOSCOPIA

TÉCNICA

- 1.-Una vez realizada la toma se hace un extendido de la muestra sobre un portaobjetos.
- 2.-Se fija con la flama del mechero.
- 3.-Se realiza la tinción de Gram según el inserto del reactivo.
- 4.-Una vez seca la muestra, se coloca una gota de inmersión y se observa al microscopio con el objetivo de 100X.
- 5.-Reportar los resultados en la bitácora de Microbiología (F-FQUI-LAC-49) y transcribirlos en el formato de CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología		
Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 5 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

BACILOSCOPIA

TÉCNICA

- 1.-Cuando la muestra es expectoración se coloca en el portaobjetos con la ayuda de un aplicador de madera, se extiende, se deja secar a temperatura ambiente y se fija con metanol.
- 2.-En muestras de orina se centrifuga toda la orina, durante 15 minutos a 3.000 rpm y se coloca en el portaobjetos con la ayuda de pipetas Pasteur estériles y se procede a extenderla con aplicadores de madera, se deja secar a temperatura ambiente y fijar con metanol.
- 3.-La tinción se puede realizar por la técnica de Ziehl-Neelsen o Kinyou según el inserto del proveedor.
- 4.-Reportar los resultados en la bitácora de Microbiología (F-FQUI-LAC-49) y transcribirlos en el formato de CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).
- 5.-Capturar los resultados en el software de laboratorio.

EXAMEN MICROSCÓPICO PARA HONGOS

TÉCNICA

- 1.-Se coloca sobre la muestra 2 gotas de KOH al 10% y se deja 1min.
- 2.-Se observa al microscopio con el objetivo de 40X.
- 3.-Reportar los resultados en la bitácora de Microbiología (F-FQUI-LAC-49) y transcribirlos en el formato de CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).
- 4.-Capturar los resultados en el software de laboratorio.

TINCIÓN DE GRAM

TÉCNICA

- 1.-Tomar una colonia bacteriana y disolverla con una gota de solución salina en un portaobjetos.
- 2.-Se realiza la tinción de Gram según el inserto del reactivo.
- 3.-Una vez seca la muestra, se coloca una gota de inmersión y se observa al microscopio con el objetivo de 100X.

EQUIPO AUTOMATIZADO VITEK 2 COMPACT

- 1.-El procesamiento de las muestras se realizarán de acuerdo a los Manuales del usuario del instrumento vitek® 2 compact, Manual del Software System Web, Manual de usuario del software para vitek® 2 y vitek® 2 compact y la Guía rápida de usuario vitek 2® compact.
 - 2.-Utilizar las tarjetas de identificación según sea el microorganismo.
 - 3.-Si la muestra tiene antibiograma, utilizar la tarjeta correspondiente para cada microorganismo.
- Nota.-Los antibióticos de cada tarjeta varían y se encuentran en los insertos correspondientes.

En el apartado de localización se utilizan las siguientes abreviaturas:

Localización	Abreviatura
Módulo Fénix	Fénix
Módulo inalámbrica	LACSC

En el tipo de muestra y fuente se utiliza las siguientes abreviaturas:

Tipo de muestra y fuente	Abreviatura
Urocultivo	URO
Exudado faríngeo	EXF

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 6 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

Exudado vaginal	EXVAG
Exudado nasal	EXNAS
Coprocultivo	COPRO
Cultivo ótico	EXO
Cultivo oftálmico (lagrimal)	OFTA
Lesión (herida)	LESION
Cultivo de esperma	ESPER
Cultivo de expectoración	CEXP
Exudado uretral	URE
Hemocultivo	HEMO
Cultivo micológico	MICO

Control de calidad.

Las cepas utilizadas para el control de calidad de las tarjetas se encuentran en los insertos correspondientes.

PRUEBAS PARA IDENTIFICACION BACTERIANA DE FORMA MANUAL

Los algoritmos y las tablas de identificación para los microorganismos, se localizan en el libro de Koneman Diagnóstico microbiológico.

BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

Inoculación de pruebas bioquímicas

- 1.-Ordenar las bioquímicas en una gradilla.
 - 2.-Con ayuda de un asa recta tocar una colonia del medio de cultivo y sembrar las bioquímicas según se indica en el cuadro 1.
 - 3.-Incubar las bioquímicas a 37°C por 24h.
- Nota: no cerrar los tubos por completo.

Medio	Tipo de siembra
Citrato de Simmons	Estría
Urea de Christensen	Estría
MIO	Picadura
LIA	Picadura y estría
Kligler	Picadura y estría

Cuadro 1.- Siembra de las pruebas bioquímicas

PRUEBA DE LA OXIDASA

- 1.-Con ayuda de un aplicador de madera tocar una colonia bacteriana e impregnarlo en un disco de Tetrametil p-fenilendiamina.
- 2.-Realizar la lectura de la reacción de forma inmediata (segundos). Interpretación de los resultados:

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07

Revisión: 23

Página: 7 de 14

Fecha de emisión: 5/Enero/2009

Fecha de modificación: 14/Marzo/2024

Oxidasa positiva: coloración violeta. Oxidasa negativa: incolora.

PRUEBA DE LA CATALASA

- 1.-Utilizar un portaobjetos limpio
- 2.-Depositar con una pipeta una gota de peróxido de hidrogeno.
- 3.-Tomar una colonia del cultivo con un aplicador de madera.
- 4.-Colocar el aplicador de madera en la solución de peróxido de hidrogeno al 30%. Interpretación de los resultados: Si la reacción es positiva, se observa que alrededor de la colonia se originan abundantes burbujas. Si la reacción es negativa, no se producen estas burbujas.

PRUEBA DE LA COAGULASA

TÉCNICA

Se pueden seguir dos tipos de técnicas:

1.- Prueba del portaobjetos: pone de manifiesto la coagulasa ligada:

Colocar una gota de agua destilada o solución salina fisiológica estéril sobre un portaobjetos.

Emulsionar suavemente una gota de suspensión del microorganismo en estudio de 24 horas en un caldo enriquecido (Ej.: BHI) en la gota de agua, utilizando un asa o una varilla. La prueba puede hacerse también partiendo directamente de una colonia obtenida en una placa de aislamiento.

Añadir una gota del plasma y mezclar bien.

Inclinar el portaobjetos hacia uno y otro lado.

2.- Prueba en tubo: pone de manifiesto la coagulasa ligada y la libre:

Añadir asépticamente 0,5 ml de plasma a 0,5 ml de un cultivo puro de 18 a 24 h. en un caldo enriquecido.

Mezclar por rotación suave del tubo, evitando agitar el contenido.

Incubar a 37° C, preferiblemente en un baño de agua, observando periódicamente el tubo.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

1.- Prueba en portaobjetos: una reacción positiva se detecta en 15 a 20 segundos por la formación de grumos blancos. La prueba se considera negativa si no se observa aglutinación en 2 a 3 minutos. Todos los resultados negativos deben verificarse mediante la prueba en tubos debido a que algunas cepas de *Staphylococcus aureus* producen coagulasa libre que no reacciona en la prueba en portaobjetos.

2.- Prueba en tubo: La **reacción** se considera **positiva** ante cualquier grado de coagulación visible dentro del tubo. La reacción se observa mejor inclinando el tubo. Si es positiva, el coágulo permanece en el fondo del tubo.

Reacción negativa: ausencia de coágulo tras 24-48 horas de incubación.

SUSCEPTIBILIDAD A OPTOQUINA

TÉCNICA

1.-Sembrar masivamente una colonia del microorganismo a investigar sobre un cuadrante de una placa de agar sangre y colocar un disco de optoquina.

2.-Incubar a 37°, en condiciones microaerofílica durante 24 horas.

3.-Si la prueba es positiva, se observa un halo de inhibición alrededor del disco de ≥ 16 mm de diámetro.

SUSCEPTIBILIDAD A BACITRACINA

TÉCNICA



Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 8 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

- 1.-Sembrar masivamente una colonia del microorganismo a investigar sobre un cuadrante de una placa de agar sangre y colocar un disco de bacitracina de 0.04U.
- 2.-Incubar a 37°, en condiciones microaerofílica durante 24 horas.
- 3.-Si la prueba es positiva, se observa un halo de inhibición alrededor del disco.

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIOTICOS

ANTIBIOGRAMA DE DIFUSIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER

TÉCNICA

- 1.-A partir de una placa de cultivo de 18 a 24 hrs de incubación tomar varias colonias con un asa bacteriológica y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de MacFarland en solución salina isotónica estéril. Antes de 15 minutos deben inocularse las cajas.
 - 2.-Impregnar una torunda con la suspensión; escurrirla contra la pared del tubo e inocular la superficie de la placa, mediante estrías cruzadas en varias direcciones. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de colocar los discos.
 - 3.-Con pinzas flameadas y frías (o con un aplicador automático) se disponen los discos sobre las placas, adherir cada disco al agar presionando ligeramente con las pinzas.
- A los 15 minutos se llevan a incubar, invertidas, a 35-37° C.

LECTURA

- 1.-Se realiza la lectura dentro de las 16-24 horas.
- 2.-Medir los halos con calibrador o regla graduada, considerando la zona que está libre de crecimiento. En caso de bacteriostáticos es aceptable un ligero velo dentro del halo. La presencia de colonias en el interior del halo indica contaminación, cultivo mixto o aparición de resistencia.
- 3.-Si un antibiótico presenta una inhibición total de la bacteria y el antibiótico que se encuentra a su lado también tiene inhibición, no permitiendo poder medir el halo de inhibición se puede reportar en la bitácora (F-FQUI-LAC-49) con un signo (-) y en el formato de CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11) se reportaría como sensible.
- 4.-Reportar los resultados en la bitácora (F-FQUI-LAC-49) y transcribirlos en el formato de CULTIVOS (F-FQUI-LAC-11).
- 5.-Capturar los resultados en el software de laboratorio.

Tabla 1.- Medios utilizados para la siembra de los diferentes cultivos y los microorganismos patógenos que se buscan.

Tipo de cultivo	Medios de siembra	Algunos microorganismos patógenos
Cultivo de exudado faríngeo	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar de Sal y Manitol.	Se investigará rutinariamente la presencia de <i>Streptococcus</i> beta-hemolítico del grupo A (<i>S.pyogenes</i>), <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus</i> beta hemolítico no del grupo A y no del grupo B, entre otros.
Cultivo de exudado nasal	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar de Sal y Manitol y Agar Thayer Martin.	Esta muestra se utiliza para buscar portadores de <i>S.aureus</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> entre otros.
Cultivo de exudado vaginal	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Esta muestra se utiliza para conocer la etiología en casos de vaginosis bacteriana, candidiasis vaginal, <i>Trichomonas vaginales</i> entre otros. Puede utilizarse para búsqueda

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 9 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

		de portadoras de <i>Streptococcus</i> del grupo B en embarazadas.
Cultivo de exudado uretral	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Se utiliza para el diagnóstico etiológico de uretritis y La principal bacteria a investigar es <i>N. gonorrhoeae</i> .
Cultivo de esperma (espermocultivo)	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	El cultivo está indicado en aquellos hombres que presentan dolor al orinar o inflamación en los testículos e infertilidad.
Urocultivo	Agar Sangre y un medio general o de baja selectividad (Agar Cled o Agar Mac Conkey).	La prueba se realiza para determina si existe una infección en las vías urinarias. Se investiga la presencia de bacterias u hongos.
Coprocultivo	Siembra directa de la muestra fecal en Agar Salmonella-Shigella, Agar Mac Conkey y en caldo de Tetrionato. Siembra del caldo tetrionato en Agar Salmonella- Shigella, Agar Mac Conkey.	Se buscan las bacterias patógenas del tracto digestivo como por ejemplo <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y <i>Yersinia</i> ente otras.
Cultivo de lesión	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Se busca el crecimiento de un microorganismo que este causando infección.
Hemocultivo	Agar Sangre y Agar Chocolate	El hemocultivo es una prueba que se utiliza para diagnosticar bacteriemias y fungemias.
Cultivo de expectoración	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Se busca a microorganismos patógenos que estén ocasionando una infección en el tracto respiratorio inferior.
Cultivo oftálmico(lagrimal)	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Los patógenos bacterianos más comunes son <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . La conjuntivitis aguda también puede ser causada por dos patógenos de transmisión sexual, <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
Cultivo ótico	Agar Sangre, Agar Mac Conkey, Agar Chocolate, Agar Thayer Martin, Agar Dextrosa de Sabouraud, Agar de Sal y Manitol.	Se busca microorganismos patógenos como <i>Streptococcus pneumoniae</i> , entre otros.
Cultivos micológicos de piel, uñas, cabello, lesión	2 cajas de Agar Dextrosa Sabouraud.	Se buscan hongos patógenos

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología		
Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 10 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	
(herida), expectoración, exudado faringeo.		

Al finalizar el análisis de la muestra microbiológicas eliminar guantes, agujas, material biológico (cepas) en bolsas y recipientes especiales según la Bitácora del almacén temporal residuos peligrosos biológicos infecciosos (RPBI) con código I-FQUI-LAC-10 de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002.

ANEXOS

ANEXO 1 Asa calibrada de platino color negro de 0.01 mL o asa calibrada de platino color rojo de 0.001 mL.



ANEXO II.- Preparación de solución salina al 0.9%

NaCl	9 gr
H ₂ O	1000 mL

Pesar 9 gr de NaCl, aforar a 1000 mL, luego distribuir 1.5 mL en tubos y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min, una vez estériles incubarlos 35-37°C para pasar prueba de esterilización.

ANEXO III.- Preparación de KOH al 10%

KOH	10 gr
H ₂ O	100 mL

Pesar 10 gr de KOH, aforar a 100 mL y conservar en un frasco.

REFERENCIAS

- 1.- Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenber, P. y Woods, G. Koneman Diagnóstico microbiológico, Texto y Atlas en color, 6ª ed., Médica Panamericana: Argentina, 2008.
- 2.- Morales-Parra Gloria I., Castro-Amaris Glorimar, Mendoza-Bolaño Yulieth C., Rubiano-Orozco Luis A., Pacheco-Villa Janeth M. Una mirada rápida al control de calidad interno en el que hacer diario del laboratorio de microbiología. Medicina & Laboratorio, 2017, 23 (9): 459-473.
- 3.- Herrera Dubraska, López Patricia, Duque Rivera José Luis, Pérez Ybarra Luis, Golding Rafael, Hernández Clara. Asas metálicas calibradas para microbiólogos: Una alternativa de fabricación nacional. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2010, 30:1-10.
- 4.- Inserto de la tinción de Gram [En línea] Disponible en: www.hycel.com.mx [Accedido 26-Agosto-2022].
- 5.- Manual de Algoritmos para el Diagnóstico de Tuberculosis; 2018 [En línea] Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=list&slug=guias-9705&Itemid=270&lang=es [Accedido 28-febrero-2023].

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 11 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

- 6.- Biomérieux 2016. Manual del usuario del instrumento vitek 2 compact.
 7.-Martínez L. Biomérieux 2016. Guía rápida del manual de usuario vitek 2 compact.
 8.- Biomérieux 2017. Product information vitek 2.
 9.- Biomérieux 2016. Manual del usuario del software vitek 2.
 10.- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-Performace standards for antimicrobial Susceptibility Testing, 2021.

4.- DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Código	Nombre del documento	Lugar de almacenamiento
N/A	Manual del usuario del instrumento vitek® 2 compact	Área de trabajo
N/A	Manual del Software System Web	Área de trabajo
N/A	Manual de usuario del software para vitek® 2 y vitek® 2 compact	Área de trabajo
N/A	Guía rápida de usuario vitek 2® compact	Área de trabajo
N/A	Preparación de muestras vitek 2® compact	Área de trabajo
N/A	Norma Mexicana protección ambiental-Residuos peligrosos biológico- infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo (NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002).	LACSC
N/A	Libro de Diagnóstico Microbiológico.	Área de trabajo
N/A	Clinical and Laboratory Standards Institute.	Área de trabajo
I-FQUI-LAC-01	Instructivo de condiciones y procedimiento para la toma de muestras biológicas en el laboratorio de análisis clínicos	Página de la Facultad de Química
N/A	Manual de los insertos del vitek® 2 compact	Área de trabajo

5.- CONTROL DE REGISTROS

Identificación	Nombre del registro	Lugar de almacenamiento	Responsable de su protección	Tiempo de retención	Disposición de los registros
F-FQUI-LAC-11	Cultivos.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-19	Formato para el registro diario de temperatura de la estufa.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: **I-FQUI-LAC-07**

Revisión: **23**

Página: **12 de 14**

Fecha de emisión: **5/Enero/2009**

Fecha de modificación: **14/Marzo/2024**

F-FQUI-LAC-24	Formato para el registro diario de temperatura del refrigerador.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-48	Hoja estadística de estudios.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-49	Bitácora de Microbiología.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-52	Control y Preservación de Reactivos.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-61	Bitácora de mantenimiento y uso diario del autoclave.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-82	Bitácora de relación de los estudios entregados por el área de microbiología.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-87	Cuestionario de toma de muestras para cultivos.	Área de recepción	Responsable de recepción	1 año	Archivo muerto
F-FQUI-LAC-99	Bitácora de mantenimiento y uso diario de incubadora bacteriológica.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-100	Bitácora de mantenimiento y uso diario del mechero de bunsen.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-102	Bitácora de mantenimiento y uso diario de la balanza.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-103	Bitácora de mantenimiento y uso diario de microscopios.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-104	Bitácora de mantenimiento y uso diario de placa de calentamiento.	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-107	Bitácora de mantenimiento y uso diario de micropipetas	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-110	Bitácora de mantenimiento y uso diario de centrífuga	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-114	Informe clínico	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Archivo muerto

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología

Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 13 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

F-FQUI-LAC-115	Bitácora de mantenimiento y uso diario del Vitek 2 compact	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico
F-FQUI-LAC-116	Bitácora de mantenimiento y uso diario del densichek plus	Área de trabajo	Responsable de área	1 año	Electrónico

6.- GLOSARIO

6.1.- SIGLAS

UADY.- Universidad Autónoma de Yucatán.
 LACSC.- Laboratorio de análisis clínicos de servicio a la comunidad.
 RPBI.- Residuos peligrosos biológicos infecciosos.
 AS.- AGAR SANGRE.
 MC.- AGAR MAC CONKEY.
 MSA.- AGAR DE SAL Y MANITOL.
 Achoc.- AGAR CHOCOLATE.
 ATM.- AGAR THAYER MARTIN.
 ADexS.- AGAR DEXTROSA SABOURAUD.
 SS.- AGAR SALMONELLA-SHIGELLA.
 CLED.- AGAR CLED.
 BAAR.-Bacilo ácido-alcohol resistente.

6.2.- DEFINICIONES

Urocultivo.- cultivo de orina
 Coprocultivo.- cultivo de heces fecales
 Hemocultivo.- cultivo de sangre

7.- CONTROL DE REVISIONES

Nivel de revisión	Sección y/o página	Descripción de la modificación y mejora	Fecha de modificación
17	19 22-25 63	Se cambió la contraseña de la computadora vitek 2 Se actualizaron las figuras 2, 3, 4, 5, 6 y 7 por el cambio del Software System Web. En el apartado de documentos de referencia se actualizó el Manual del usuario del instrumento vitek 2 compact y la Guía rápida de usuario vitek 2 compact. Se agregó el Manual del Software System Web, Manual de usuario del software para vitek® 2 y vitek® 2 compact y la preparación de muestras vitek 2 compact.	17/Marzo/2021
18	65	Se cambió el nombre del director de la Facultad de Química y del responsable sanitario del LACSC.	27/Enero/2022

Instructivo para el procesamiento de muestras del área de Microbiología		
Código: I-FQUI-LAC-07	Revisión: 23	Página: 14 de 14
Fecha de emisión: 5/Enero/2009	Fecha de modificación: 14/Marzo/2024	

19	5	Se agregó el cultivo de esperma.	28/Noviembre/2022
	1 y 25	Se eliminó los módulos de la Coordinación General de Salud y San José Tecoh, así como sus abreviaturas.	
	21	Se agregó los antibióticos de las tarjetas AST-N272 para la sensibilidad de Gram negativos.	
	22	Se agregó los antimicóticos de las tarjetas AST-YS08 para la sensibilidad de levaduras.	
	20	Se cambió la contraseña de la computadora Vitek 2, además se agregó el ID de usuario y contraseña del sistema Vitek 2.	
	45	Se agregó la Tabla 8 Intervalos de interpretación de los antibióticos de la tarjeta AST-N272 para la sensibilidad de Gram negativos.	
20	3 y 4	Se agregó el tiempo de centrifugación del examen en fresco del exudado vaginal y exudado uretral.	14/Marzo/2023
	14	Se agregó la metodología de BAAR en orina.	
	20	Se eliminó el ID de usuario y contraseña de la computadora del Vitek 2, del sistema Vitek 2 y de la computadora del Observa.	
21	6	Se definió a partir de cuantos microorganismos se considera contaminado un urocultivo.	23/Mayo/2023
22	21	Se agregó los antibióticos de la tarjeta AST-N402 para la sensibilidad de Gram negativos.	10/Noviembre/2023
	41	Se eliminaron las tablas de la 4 a la 12	
	30, 31 y 40	Se eliminaron los antibióticos adicionales para bacterias grampositivas y gramnegativas en la técnica de Kirby bauer.	
	53	Se agregó en los documentos de referencia, el manual de los insertos del vitek@ 2 compact.	
23	1-58	El examen en fresco del cultivo de exudado uretral y del cultivo de exudado vaginal se cambió las r.p.m. de centrifugación de 1650 a 1890. Se eliminó la preparación de los medios de cultivos. Se eliminaron los anexos del II al IX y el XII Actualización de las referencias. Se agregó la tabla 1 Medios utilizados para la siembra de los diferentes cultivos y los microorganismos patógenos que se buscan. Se eliminaron los esquemas de identificación. Se simplificaron las técnicas en todo el documento.	14/Marzo/2024

Nota: Ésta sección será utilizada a partir de la primera modificación a este documento. La revisión 00, se mantendrá en blanco.

<p>Elaboró</p> <hr/> <p>M. en C. Claribel Huchin Chan <i>Responsable del área de Microbiología</i></p>	<p>Revisó</p> <hr/> <p>EBC Ricardo May Castillo <i>Responsable sanitario</i></p>	<p>Aprobó</p> <hr/> <p>M. en C. Amílcar Ramsés González <i>Director de la Facultad de Química</i></p>
---	---	--