



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-LB-09

Página 1 de 2

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

INDICE	Pág.
1. ALCANCE.....	1
2. DOCUMENTOS APLICABLES.....	1
3. DEFINICIONES.....	2
4. MATERIAL Y EQUIPO	3
5. DESARROLLO.....	3
6. ANEXOS.....	6
7. CONTROL DE CAMBIOS.....	6

1. Alcance:

Desde la inoculación de la placas, pruebas de rápidas de clasificación y reporte de los resultados obtenidos en base a las pruebas realizadas por parte del Químico/Laboratorista adscrito al laboratorio de Bacteriología del "Antiguo Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde" (AHCGFAA).

2. Documentos Aplicables:

IT-CH-LB-04 Instrucción de trabajo para primo aislamiento

PR-CH-LB-06 Procedimiento para la manipulación y desechos de materiales y residuos peligrosos biológico-infecciosos del laboratorio de bacteriología.

NOM-065-SSA1-1993 Que establece las especificaciones sanitarias de los medios de cultivo.

NOM-007-SSA3-2011 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

NOM-017-STPS-2008 Equipo de protección personal-selección, uso y manejo en los centros de trabajo.

NOM-087-ECOL-SSA1-2002 protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológicos infecciosos, calcificación y especificaciones de manejo

N/A Bitácoras de registro (hemocultivos, urocultivo, coprocultivo, secreciones, líquidos estériles)

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	QFB Crisóforo Gómez Quiroz <i>Crisofo G</i> Analista	Dr. Sergio Esparza Ahumada <i>[Firma]</i> Jefe del Laboratorio de Bacteriología	Dr. Héctor Morales Villarruel <i>[Firma]</i> Jefe de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA	Código: IT-CH-LB-09
		Página 2 de 6
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: SEP-2018 Versión vigente: 00

3. Definiciones:

Asa bacteriológica: Es un instrumento de laboratorio que consta de una base que puede estar hecha de platino, acero, aluminio y un filamento que puede ser de nicromo, tungsteno o platino que termina o en un arito de 5 mm o en punta.

Medio de cultivo: Gel o una solución que contiene los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de virus, microorganismos, células

Incubadora: Aparato cuya función común es crear un ambiente con la humedad y temperatura adecuados para el crecimiento o reproducción de seres vivos o microorganismos

Bacitracina: Es el nombre de un antibiótico producido por una mezcla de polipéptidos cíclicos de síntesis no ribosomal relacionados unos con los otros y producidos por cepas de la variedad Tracy de la bacteria *Bacillus subtilis* aislado en 1945

Optoquina Es un derivado de la quinina se propuso para el tratamiento de neumonías. Ha quedado reducido su uso al diagnóstico de laboratorio por la alta toxicidad en el hombre.

Oxidasa: Enzima que activa el oxígeno y lo fija al hidrógeno o a otros cuerpos.

Catalasa: Es una enzima perteneciente a la categoría de las oxidoreductasas que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua.

Coagulasa: Es una proteína producida por varios microorganismos que permite la conversión del fibrinógeno en fibrina. En el laboratorio, se usa para distinguir entre diferentes tipos de *Staphylococcus*.

Plasma: Es la fracción líquida y a celular de la sangre. Se obtiene al dejar a la sangre desprovista de células como los glóbulos rojos y los glóbulos blancos

Streptococcus: Es un grupo de bacterias formado por cocos gram -positivos pertenecientes al filo firmicutes y al grupo de las bacterias ácido lácticas.

streptococcus pneumoniae: Es un microorganismo patógeno capaz de causar en humanos diversas infecciones y procesos invasivos severos. Se trata de una bacteria Gram positiva de 1,2-1,8 μm de longitud, que presenta una forma oval y el extremo distal lanceolado. Es inmóvil, no forma endosporas, y es un miembro alfa-hemolítico del género *Streptococcus*.

COPIA NO CONTROLADA



INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-LB-09

Página 3 de 6

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

4.- Material y Equipo:

- Sensidisco de bacitracina
- Sensidiscos de optoquina
- Disco de oxidasa
- Plasma
- Agua oxigenada
- Agar sangre
- Asa bacteriológica
- Incubadora
- Tubo de ensayo
- Porta objetos
- Pinzas de metal

5. Desarrollo:

No.	Responsables	Descripción de la Actividad
5.1	Químico /Laboratorista	Selecciona la prueba rápida a realizar <ul style="list-style-type: none">● Oxidasa● Catalasa● Coagulasa● Optoquina● Bacitracina
5.2 prueba de oxidasa		
5.2.1	Químico /Laboratorista	Selecciona la colonia de interés
5.2.2	Químico /Laboratorista	Retira un disco con reactivo de oxidasa de su empaque con pizas estériles
5.2.3	Químico /Laboratorista	Coloca el disco con reactivo de oxidasa en un porta objetos
5.2.4	Químico /Laboratorista	Toma el asa bacteriológica estéril y toma una o dos asadas de la colonia de interés
5.2.5	Químico /Laboratorista	Coloca muestra tomada con el asa sobre el disco con reactivo de oxidasa, con cuidado
5.2.6	Químico /Laboratorista	Espera durante un minuto para ver el resultado <ul style="list-style-type: none">● Cambio de color en la zona donde fue colocado la muestra se considera oxidasa positivo

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA	Código: IT-CH-LB-09
		Página 4 de 6
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: SEP-2018 Versión vigente: 00

		<ul style="list-style-type: none"> Sin cambio de color se considera oxidasa negativo
5.3 prueba de la catalasa		
5.3.1	Químico /Laboratorista	Selección la colonia de interés
5.3.2	Químico /Laboratorista	Toma con el asa bacteriológica una azada de la colonia de interés
5.3.3	Químico /Laboratorista	Coloca la muestra sobre un portaba objetos
5.3.4	Químico /Laboratorista	Realiza un pequeño extendido de la muestra
5.3.5	Químico /Laboratorista	Coloca una gota de agua oxigenada sobre el extendido de la muestra
5.3.6	Químico /Laboratorista	Espera a la reacción del agua con el extendido <ul style="list-style-type: none"> Produce burbujas, se considera catalasa positiva No produce burbujas se considera catalasa negativa
5.4 prueba de la Coagulasa		
5.4.1	Químico /Laboratorista	Retira de refrigeración el plasma
5.4.2	Químico /Laboratorista	Coloca en el tubos 1 mL del suero una vez atemperado
5.4.3	Químico /Laboratorista	Selección la colonia de interés
5.4.4	Químico /Laboratorista	Toma con el asa bacteriológica una azada de la colonia de interés
5.4.5	Químico /Laboratorista	Coloca la muestra dentro del tubo con el plasma y agitar, incubar durante 24 hrs.
5.4.6	Químico /Laboratorista	Retira el tubo de la incubadora y valora <ul style="list-style-type: none"> Formación del coagulo se considera coagulasa positivo No formación del coagulo se considera coagulasa negativo
5.5 prueba de Optoquina		
5.5.1	Químico /Laboratorista	Selecciona colonia de interés
5.5.2	Químico /Laboratorista	Toma con el asa bacteriológica un porción de la colonia
5.5.3	Químico /Laboratorista	Realiza la descargar de la colonia en agar sangre

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA	Código: IT-CH-LB-09
		Página 5 de 6
		Fecha de Revisión: SEP-2018
DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO		Versión vigente: 00

5.5.4	Químico /Laboratorista	Realiza la inoculación del agar ver (IT-CH-LB-04 Instrucción de trabajo para distribución de muestras y primo aislamiento)
5.5.5	Químico /Laboratorista	Retira disco impregnado con optoquina de su empaque con pinzas de metal
5.5.5	Químico /Laboratorista	Coloca el disco de optoquina en agar sangre ya inoculado, presiona suavemente para fijarlo de manera correcta.
5.5.7	Químico /Laboratorista	Tama el medio de cultivo y lo introduce a la incubadora de manera invertida a 37+- 2 °C por 18-24 horas
5.5.8	Químico /Laboratorista	Retira el medio de cultivo transcurrido el tiempo de incubación.
5.5.9	Químico /Laboratorista	<p>Examina la placa, revisa el crecimiento y mide halo de inhibición.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Si se presenta ausencia de crecimiento en forma de halo alrededor del disco de optoquina de un diámetro igual o mayor a 14 mm se considera sensible. • Si no se presente halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco de optoquina se considera resistente. <p>Nota: prueba es presuntiva para <i>streptococcus pneumoniae</i>.</p>
5.6 prueba de bacitracina		
5.6.1	Químico /Laboratorista	Selecciona colonia de interés
5.6.2	Químico /Laboratorista	Toma con el asa bacteriológica un porción de la colonia
5.6.3	Químico /Laboratorista	Realiza la descargar de la colonia en agar sangre
5.6.4	Químico /Laboratorista	Realiza la inoculación del agar ver IT-CH-LB-04 Instrucción de trabajo para distribución de muestras y primo aislamiento).
5.6.5	Químico /Laboratorista	Retira disco impregnado con bacitracina de su empaque con pinzas de metal
5.6.6	Químico /Laboratorista	Coloca el disco de bacitracina en agar sangre ya inoculado, presiona suavemente para fijarlo de manera correcta.
5.6.7	Químico /Laboratorista	Tama el medio de cultivo y lo introduce a la incubadora de manera invertida a 37+- 2 °C por 24 horas
5.6.8	Químico /Laboratorista	Retira el medio de cultivo transcurrido el tiempo de incubación.

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PARA PRUEBAS RÁPIDAS DE CLASIFICACIÓN BACTERIANA	Código: IT-CH-LB-09
		Página 6 de 6
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: SEP-2018 Versión vigente: 00

5.6.9	Químico /Laboratorista	Examina la placa, revisa el crecimiento y halo de inhibición. <ul style="list-style-type: none"> • Si se presenta ausencia de crecimiento en forma de halo alrededor del disco de bacitracina se considera sensible. (presuntivamente estreptococo beta hemolítico del grupo A) • Si no se presente halo de inhibición de crecimiento alrededor del disco de bacitracina se considera resistente. (presuntivamente no pertenece al grupo de estreptococos del grupo A)
5.7	Químico /Laboratorista	Desecha el material utilizado ver (PR-CH-LB-06 Procedimiento para la manipulación y desechos de materiales y residuos peligrosos biológico-infecciosos del laboratorio de bacteriología).
5.8	Químico /Laboratorista	Realiza las anotaciones de los resultados obtenidos en la bitácora del área correspondiente, así como en el sistema de registro.

6. Anexos

N/A.

7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	SEP-2018	Alta del documento

COPIA NO CONTROLADA