

**INSTRUCCION DE TRABAJO  
PARA LA LEABORACION DE MICROSCOPIAS**

**DIVISION DE SERVICIOS AUXILIARES DE  
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LB-05

Página 1 de 8

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

**INDICE**

	<b>Pág.</b>
1. ALCANCE.....	1
2. DOCUMENTOS APLICABLES.....	1
3. DEFINICIONES.....	2
4. MATERIAL Y EQUIPO .....	3
5. DESARROLLO.....	4
6. ANEXOS.....	8
7. CONTROL DE CAMBIOS.....	8

**1. Alcance:**

Desde la recepción de la muestra, preparación del extendido del frotis, tinción lectura y generación y validación del reporte de resultados por parte del personal adscrito al Laboratorio Bacteriología del "Antiguo Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde" (AHCGFAA).

**2. Documentos Aplicables:**

IT-CH-LBC-01 instrucción de trabajo para recepción y captura de datos.

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

**NOM-005-STPS-1998** Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

**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.

**NOM-052-SEMARNAT-2005** Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.

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



## INSTRUCCION DE TRABAJO PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO  
Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-LB-05

Página 2 de 8

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

### 3. Definiciones:

**Tinción:** Técnica auxiliar utilizada en microscopias para mejorar el contraste en la imagen vista en el microscopio.

**Kinyoun modificado:** Tinción que se realiza como una variante a la técnica tradicional de ziehl neelsen que se utiliza para la detección de tuberculosis.

**Lugol:** Es una disolución de yodo molecular  $I_2$  y yoduro potásico KI en agua destilada utilizada para la tinción de gram.

**Alcohol al 50 %:** Es una solución preparada con alcohol etílico que lleva 50 % alcohol y 50 % agua y es utilizada para decolorar

**Alcohol cetona:** Es una solución prepara en base a alcohol y acetona sirve para la decoloración en la tinción de Gram.

**Azul de cristal violeta:** Colorante utilizado en la tinción de gram, tiñendo de color azul a los microorganismos afines a él.

**Azul de metileno** Es un colorante empleado como colorante para pigmentar se emplea en las tinciones para las observaciones realizadas a través de un microscopio.

**Microscopio** Instrumento óptico para ampliar la imagen de objetos o seres, o de detalles de estos, tan pequeños que no se pueden ver a simple vista; consta de un sistema de lentes de gran aumento.

**Acido sulfúrico:** El ácido sulfúrico es un compuesto químico extremadamente corrosivo cuya fórmula es  $H_2SO_4$ . Es el compuesto químico que más se produce en el mundo, por eso se utiliza como uno de los tantos medidores de la capacidad industrial de los países.

**Laminilla (porta objetos):** Es una lámina delegada de vidrio que se utiliza para colocar especímenes de poco tamaño para su estudio.

**Microscopia:** Es el conjunto de técnicas y métodos destinados a hacer visible los objetos de estudio que por su pequeñez están fuera del rango de resolución del ojo normal.

**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.

COPIA NO CONTROLADA



## INSTRUCCION DE TRABAJO PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS

DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO  
Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-LB-05

Página 3 de 8

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

**Mechero de bunsen:** Es un instrumento utilizado en los laboratorios científicos para calentar, esterilizar o proceder a la combustión de muestras o reactivos químicos.

**Emulsión:** Una emulsión es una mezcla de dos líquidos inmiscibles de manera más o menos homogénea

**Aceite de inmersión:** Sirve para aumentar la resolución de un microscopio mediante la inmersión de la lente objetivo y el espécimen en un aceite transparente de alto índice de refracción

**Solución salina :** Es una disolución acuosa de sal de mesa en agua, hasta cierto grado compatible con los organismos vivos debido a sus características definidas de osmoticidad, pH y fuerza iónica.

**Agua destilada:** Es aquella sustancia cuya composición se basa en la unidad de moléculas de H<sub>2</sub>O y ha sido purificada o limpiada mediante destilación.

**Líquido cefalorraquídeo.** Es un líquido incoloro, que baña el encéfalo y la médula espinal. Circula por el espacio subaracnoideo, los ventrículos cerebrales y el canal epidural sumando un volumen entre 100 y 150 ml, en condiciones normales

#### 4.- Material y Equipo:

- Soluciones (Iugol, alcohol al 50%, alcohol cetona metanol ácido sulfúrico )
- Colorantes (azul de cristal violeta, fucsina, azul de metileno, safranina)
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Aceite de inmersión
- Microscopios
- Agua
- Tinta china
- Asa
- Mechero bunsen

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO  
PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO  
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LB-05


Página 4 de 8

Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00


<b>5. Desarrollo:</b>		
<b>No.</b>	<b>Responsables</b>	<b>Descripción de la Actividad</b>
5.1	Personal administrativo	Recibe N/A solicitud de exámenes y muestra ver (IT-CH-LBC-01 instrucción de trabajo para recepción y captura de datos).
5.2	Químico/ Laboratorista	Recibe la muestra y la N/A solicitud de exámenes
5.3	Químico/ Laboratorista	Revisa exámenes solicitados en la N/A solicitud de exámenes <b>Nota:</b> si se le pide cultivo se realizara este en primera instancia ver (IT-CH-LB-04 Instrucción de trabajo para distribución de muestras y primo aislamiento), por el Químico /Laboratorista encargado.
<b>5.4 Tinción de gram</b>		
5.4.1	Químico/ Laboratorista	Toma una laminilla limpia y coloca una pequeña cantidad de muestra <b>Nota:</b> si la muestra es solida colocar agua destilada o solución salina para emulsionar.
5.4.2	Químico/ Laboratorista	Realiza una extensión delgada con un aplicador de madera sobre el porta objetos
5.4.3	Químico/ Laboratorista	Deja secar por completo a temperatura ambiente
5.4.4	Químico/ Laboratorista	Fija la muestra con calor ya que se encuentre la muestra seca completamente (pasando varias veces por la llama del mechero).
5.4.5	Químico/ Laboratorista	Agrega cristal violeta durante 1 min.
5.4.6	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.4.7	Químico/ Laboratorista	Agrega lugol por 1 min.
5.4.8	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.4.9	Químico/ Laboratorista	Agrega alcohol cetona (50 %) hasta decoloración completa.
5.4.10	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.4.11	Químico/ Laboratorista	Agrega safranina por 30 seg. <b>Nota :</b> el tiempo puede variar de acuerdo a la intensidad del colorante

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCION DE TRABAJO PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS</b>	Código: IT-CH-LB-05
		Página 5 de 8
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: SEP-2018
		Versión vigente: 00

5.4.12	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.4.13	Químico/ Laboratorista	Deja secar completamente
5.4.14	Químico/ Laboratorista	Agrega una gota de aceite de inmersión sobre el extendido ya teñido, una vez este seco.
5.4.15	Químico/ Laboratorista	Coloca la laminilla con el extendido en el microscopio.
5.4.16	Químico/ Laboratorista	Selecciona el objetivo 100x
5.4.17	Químico/ Laboratorista	Enfoca la muestra y comienza el recorrido del extendido en forma de zigzag.
5.4.18	Químico/ Laboratorista	Realiza reporte de resultado de acuerdo a lo observado y lo valida con nombre y firma del responsable, cedula profesional fecha y hora.
<b>5.5 Frotis en fresco</b>		
5.5.1	Químico/ Laboratorista	Toma una laminilla limpia
5.5.2	Químico/ Laboratorista	Coloca una gota de la muestra <b>Nota:</b> si la muestra es solida colocar agua destilada o solución salina para emulsionar.
5.5.3	Químico/ Laboratorista	Tapa la muestra con un cubre objetos
5.5.4	Químico/ Laboratorista	Coloca la porta objetos en el microscopio
5.5.5	Químico/ Laboratorista	Selecciona objetivo 40x
5.5.6	Químico/ Laboratorista	Enfoca la muestra y comienza el recorrido del extendido en forma de zigzag
5.5.7	Químico/ Laboratorista	Realiza reporte de resultado de acuerdo a lo observado y lo valida
<b>5.6 Tinción de azul de metileno</b>		
5.6.1	Químico/ Laboratorista	Toma una laminilla limpia
5.6.2	Químico/ Laboratorista	Realiza un extendido delgado de la muestra.  <b>Nota:</b> si la muestra es solida colocar agua destilada o solución salina para emulsionar.

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCION DE TRABAJO PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS</b>	Código: IT-CH-LB-05
		Página 6 de 8
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: SEP-2018
		Versión vigente: 00

5.6.3	Químico/ Laboratorista	Deja secar por completo a temperatura ambiente.
5.6.4	Químico/ Laboratorista	Fija la muestra con calor ya que se encuentre la muestra seca completamente (pasando varias veces por la llama del mechero).
5.6.5	Químico/ Laboratorista	Añade azul de metileno durante 1 min.
5.6.6	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.6.7	Químico/ Laboratorista	Deja secar por completo
5.6.8	Químico/ Laboratorista	Añade una gota de aceite de inmersión sobre el extendido ya teñido y seco.
5.6.9	Químico/ Laboratorista	Coloca la laminilla en el microscopio
5.6.10	Químico/ Laboratorista	Selecciona objetivo 100x
5.6.11	Químico/ Laboratorista	Enfoca la muestra y comienza el recorrido del extendido en forma de zigzag
5.6.12	Químico/ Laboratorista	Realiza reporte de resultado de acuerdo a lo observado y lo valida con nombre y firma del responsable, cedula profesional fecha y hora.
<b>5.7</b>	<b>Tinción de kinyoun</b>	
5.7.1	Químico/ Laboratorista	Toma una laminilla limpia
5.7.2	Químico/ Laboratorista	Realiza un extendido delgado de la muestra. Nota: si la muestra es solida colocar agua destilada o solución salina para emulsionar.
5.7.3	Químico/ Laboratorista	Deja secar por completo a temperatura ambiente.
5.7.4	Químico/ Laboratorista	Fijar con metanol por 1 min. Nota: dejar secar
5.7.5	Químico/ Laboratorista	Agrega carbol fucsina por 5 min.
5.7.6	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO  
PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS**

Código: IT-CH-LB-05

Página 7 de 8


Fecha de Revisión: SEP-2018

Versión vigente: 00

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO  
Y TRATAMIENTO**

5.7.7	Químico/ Laboratorista	Decolora con alcohol al 50 %.
5.7.8	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.7.9	Químico/ Laboratorista	Decolora con ácido sulfúrico por 2 min.
5.7.10	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente.
5.7.11	Químico/ Laboratorista	Agrega azul de metileno por 1 min.
5.7.12	Químico/ Laboratorista	Enjuaga con agua corriente
5.7.13	Químico/ Laboratorista	Deja secar por completo
5.7.14	Químico/ Laboratorista	Añade una gota de aceite de inmersión sobre el extendido ya teñido y seco.
5.7.15	Químico/ Laboratorista	Coloca la laminilla en el microscopio
5.7.16	Químico/ Laboratorista	Selecciona objetivo 100x
5.7.17	Químico/ Laboratorista	Enfoca la muestra y comienza el recorrido del extendido en forma de zig-zag
5.7.18	Químico/ Laboratorista	Realiza reporte de resultado de acuerdo a lo observado y lo valida con nombre y firma del responsable, cedula profesional fecha y hora.
<b>5.8</b>	<b>tinta china</b>	
5.8.1	Químico/ Laboratorista	Toma una laminilla limpia
5.8.2	Químico/ Laboratorista	Coloca una gota de tinta china en la laminilla
5.8.3	Químico/ Laboratorista	Agrega dos asadas de la muestra. <b>Nota:</b> esta microscopia solamente se realizara a líquidos cefalorraquídeo.
5.8.4	Químico/ Laboratorista	Mezcla la muestra con la tinta china
5.8.5	Químico/ Laboratorista	Coloca un cubre objetos inmediatamente después de haber mezclado.
5.8.6	Químico/ Laboratorista	Coloca la laminilla en el microscopio

COPIA NO CONTROLADA

	<b>INSTRUCCION DE TRABAJO PARA LA ELABORACION DE MICROSCOPIAS</b>	Código: IT-CH-LB-05
		Página 8 de 8
	<b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>	Fecha de Revisión: SEP-2018
		Versión vigente: 00

5.8.7	Químico/ Laboratorista	Selecciona objetivo 10x
5.8.8	Químico/ Laboratorista	Enfoca la muestra y comienza el recorrido del extendido en forma de zigzag  <b>Nota:</b> para hacer acercamiento realizarlo con el objetivo 40x.
5.8.9	Químico/ Laboratorista	Realiza reporte de resultado de acuerdo a lo observado y lo valida con nombre y firma del responsable, cedula profesional fecha y hora.
5.9	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).

## 6. Anexos

N/A

## 7. Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	SEP-2018	Alta del documento

COPIA NO CONTROLADA