



Resolución Ejecutiva Directoral

Moquegua, 16 de diciembre de 2025.

VISTOS: El informe N° 027-2025-DIRESA-HRM/04-0/WGL de fecha 17 de setiembre del 2025, el informe técnico N° 013-2025-DIRESA/04-0/V.EPI de fecha 24 de setiembre del 2025, el Informe N° 1954-2025-DIRESA-HRM/04 de fecha 30 de setiembre del 2025, el Informe N° 147-2025-DIRESA-HRM/03-RAC de fecha 06 de octubre del 2025, el Informe N° 1337-2025-DIRESA-HRM-03 de fecha 06 de octubre del 2025, el Informe Técnico N° 022-2025-DIRESA/HRM/05-YYRT de fecha 28 de noviembre del 2025, y, el Informe N° 599-2025-DIRESA-HRM/05 de fecha 10 de diciembre del 2025, y;

CONSIDERANDO:

Que, mediante Resolución Ejecutiva Regional N° 0101-2011-GR/MOQ, del 15 de febrero del 2011, se resuelve crear la Unidad Ejecutora 402 Hospital Regional de Moquegua, en el Pliego N° 455 Gobierno Regional del Departamento de Moquegua, para el logro de objetivos y la contribución de la mejora de la calidad y cobertura del servicio público de salud y que por la función relevante la administración de la misma requiere independencia para garantizar su operatividad, teniendo como representante legal a su director;

Que, en los numerales I, II, y VI del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, disponen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, siendo la protección de la salud de interés público; por lo tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla. En consecuencia, es responsabilidad del Estado promover las condiciones que garanticen una adecuada cobertura de prestaciones de salud a la población, en términos socialmente aceptables de seguridad, oportunidad y calidad; asimismo, el artículo 105° de la referida Ley, establece que corresponde a la Autoridad de Salud competente, dictar las medidas necesarias para minimizar y controlar los riesgos para la salud de las personas derivadas de elementos, factores y agentes ambientales;

Que, la Ley N° 26842, Ley General de Salud, también establece que es responsabilidad del Estado promover las condiciones que garanticen una adecuada cobertura de prestaciones de salud a la población, en términos socialmente aceptables de seguridad, oportunidad y calidad, con arreglo a principios de equidad;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA, aprueba la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 denominada "Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano";

Que, mediante Resolución Ministerial N° 461-2007-MINA, aprueba la "Guía Técnica para los análisis microbiológicos de superficies en contacto con alimentos y bebidas."

Que, a través de Informe N° 027-2025-DIRESA-HRM/04-0/WGL, de fecha 17 de septiembre de 2025, la Unidad de Epidemiología y Salud Ambiental, entrega la Guía Técnica de Procedimientos Sanitario: Evaluaciones Microbiológicas Ambientales Versión 01 del Hospital Regional de Moquegua;

Que, a través de Informe N° 147-2025-DIRESA-HRM/03-RAC de fecha 06 de octubre del 2025, el Área de Racionalización, remitió a la Oficina de Planeamiento Estratégico, la opinión técnica favorable a la "Guía Técnica de Procedimientos Sanitario: Evaluaciones Microbiológicas Ambientales Versión 01 del Hospital Regional de Moquegua";

Que, con Informe N° 599-2025-DIRESA-HRM/05 de fecha 10 de diciembre de 2025, la Unidad de Gestión de Calidad, en concordancia con el Informe N.º 022-2025-DIRESA/HRM/05-YYRT, otorga el visto bueno a la "Guía Técnica de Procedimientos Sanitario: Evaluaciones Microbiológicas Ambientales Versión 01 del Hospital Regional de Moquegua" y solicita su aprobación mediante acto resolutivo;

Resolución Ejecutiva Directoral

Moquegua, 16 de diciembre de 2025.

Contando con el visto bueno de la Oficina de Planeamiento Estratégico, la Unidad de Gestión de la Calidad, la Unidad de Epidemiología y Salud Ambiental y con el proveído de Dirección Ejecutiva para la emisión del acto resolutivo.

En atención a la Ley N° 27783 Ley de Bases de la Descentralización y en uso de las atribuciones conferidas, al director Ejecutivo, en el numeral 3, del Manual de Organización y Funciones (MOF), aprobado mediante Resolución Directoral N° 351-2010-DRSM-DG;

SE RESUELVE:

Artículo 1°.- APROBAR LA "GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS SANITARIO: EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS AMBIENTALES VERSIÓN 01 DEL HOSPITAL REGIONAL DE MOQUEGUA", signada con código N° 001-2025-HRM-UESA, el cual consta de treinta y siete (37) folios y forma parte integrante de la presente resolución.

Artículo 2°.- ENCARGAR a la **Unidad de Epidemiología y Salud Ambiental**, la difusión, monitoreo y evaluación de la guía aprobada con la presente resolución.

Artículo 3°.- REMÍTASE copia a la Unidad de Estadística e Informática, para su respectiva publicación en la página web Hospital Regional de Moquegua (www.hospitalmoquegua.gob.pe).

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y PUBLÍQUESE.



HOSPITAL REGIONAL DE MOQUEGUA
DR. OTTO OLIVEROS SUAREZ ANGLÉS
CMP. 034923 - RNE 038198
DIRECTOR EJECUTIVO

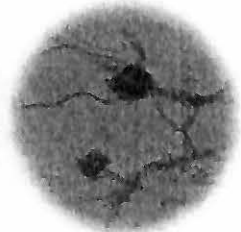
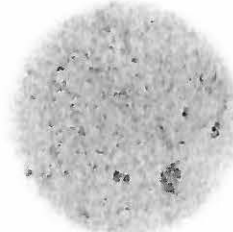
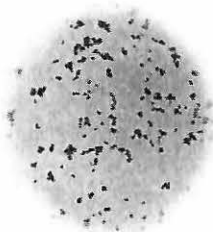
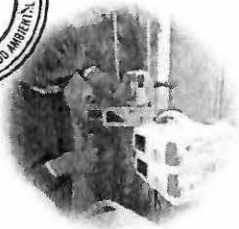
OOSA/DIRECCIÓN
JCGA/AL
(01) O. ADMINISTRACION
(01) O. PLANEAMIENTO
(01) U.EPI
(01) U.G.C
(01) ESTADÍSTICA
(01) ARCHIVO



GUIA TECNICA DE PROCEDIMIENTO SANTARIO: EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS AMBIENTALES

Versión 01

HOSPITAL REGIONAL DE MOQUEGUA



UNIDAD DE EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL

CODIGO DE GUIA <input type="text" value="001-2025-HRM – UESA"/>	DENOMINACIÓN: “GUÍA TECNICA DE PROCEDIMIENTO SANITARIO: EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS AMBIENTALES DEL HOSPITAL REGIONAL DE MOQUEGUA”
TIPO DE GUÍA <input type="text" value="SANITARIA"/>	
FECHA <input type="text" value="17/09/2025"/> FOLIOS <input type="text" value="37"/>	
REEMPLAZA A: Ninguna	ELABORADO POR: Unidad de Epidemiología y Salud Ambiental

I. FINALIDAD

La presente Guía Técnica de Procedimiento Sanitario tiene por finalidad orientar y normar las actividades y procedimientos de las evaluaciones microbiológicas ambientales en el Hospital Regional de Moquegua, para contribuir en la vigilancia de infecciones asociadas a la atención de la salud y la vigilancia de la inocuidad alimentaria.

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Proporcionar un instrumento técnico que dirija los procedimientos de las evaluaciones microbiológicas ambientales en el Hospital Regional de Moquegua para realizar un correcto control microbiológico del ambiente hospitalario.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir las etapas y procedimientos para la ejecución de los monitoreos microbiológicos de superficies inertes, vivas y de aire en el Hospital Regional de Moquegua.
- Establecer las técnicas y métodos elegidos para la evaluación microbiológica diferenciada en la vigilancia de infecciones asociadas a la atención de la salud y la vigilancia de la inocuidad alimentaria.
- Implementar los límites microbiológicos para la evaluación de las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes en contacto con alimentos.

III. BASE LEGAL

- Ley N°26842 – Ley General de Salud, y sus modificatorias.
- Decreto Legislativo N°1062 que aprueba la Ley de Inocuidad de los Alimentos.
- Decreto Supremo N°034-2008-AG que aprueba el reglamento de la Ley de Inocuidad de los alimentos.



- Resolución Ministerial N°451-2021/MINSA, aprueba la Directiva Sanitaria N°132-MINSA/2021/DIGESA denominada “Directiva Sanitaria para la Vigilancia de la Calidad del agua para consumo Humano en Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud”.
- Resolución Ministerial N°523-2020-MINSA que aprueba La NTS N°163-MINSA/2020/CDC, “Norma Técnica para la Vigilancia de las Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud”.
- Resolución Ministerial N°591-2008/MINSA, aprueba la NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01 denominada “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”.
- Resolución Ministerial N°461-2007/MINSA que aprueba la “Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.
- Resolución Ejecutiva Directoral N°114-2023-DIRESA-HRM/DE que aprueba El Plan de Higiene de manos del Hospital Regional de Moquegua-2023.
- Resolución Ejecutiva Directoral N°1280-2022-DIRESA-HRM/DE que aprueba La Guía Técnica de procedimientos de limpieza y desinfección de superficies Hospitalarias del Hospital Regional de Moquegua V.03.

IV. AMBITO DE APLICACIÓN

La presente Guía Técnica de Procedimiento Sanitario es de aplicación en todas los servicios y áreas del Hospital Regional de Moquegua.

V. DISPOSICIONES GENERALES

5.1. Definiciones Operacionales

- Análisis microbiológico:** Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.
- Cultivo microbiológico:** Método para la multiplicación de microorganismos, tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado.
- Gel refrigerante:** Producto acumulador de frío, de descongelamiento retardado, no tóxico, no comestible y reutilizable que se emplea para mantener la cadena de frío.
- Hisopo:** Instrumento que tiene un extremo recubierto de algodón o de rayón estéril que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.
- Límites microbiológicos:** Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénico sanitaria de una superficie.
- Medio de cultivo:** Conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos.
- Microorganismo:** También llamado microbio u organismo microscópico, es un ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad que presentan a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares (bacterias, virus, hongos, protozoarios).
- Plaqueo ambiental:** Procedimiento para realizar un muestreo e identificar sembrando dicha sustancia con un agar respectivo para la identificación de microorganismos en la zona que se busca analizar y cuantificar.
- Superficies inertes:** Son todas las partes externas del mobiliario, equipos, dispositivos y utensilios en los servicios de atención al paciente y la preparación de alimentos que entran en contacto con las manos del personal de salud.



- j. **Superficies vivas:** Las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el mobiliario, equipo, dispositivos en la atención del paciente, así como en la preparación de alimentos. Para efectos del presente plan se considera a las manos con o sin guantes del personal de salud.
- k. **Unidad Formadora de Colonias (UFC):** Unidad de medida que se emplea para la cuantificación de microorganismos, es decir, para contabilizar el número de bacterias o células fúngicas viables en una muestra líquida o sólida.
- l. **Vigilancia sanitaria:** Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los pacientes, personal de salud y alimentos, en protección de la salud de los pacientes y personal de salud.

5.2. Consideraciones Básicas

- a. **Áreas críticas:** Son los ambientes donde existe riesgo aumentado de transmisión de infecciones, donde se realizan procedimientos de riesgo. Con o sin pacientes o donde se encuentren pacientes inmunodeprimidos.
- b. **Áreas semi-críticas:** Son todos los ambientes ocupados por pacientes con enfermedades infecciosas de baja transmisibilidad y enfermedades no infecciosas.
- c. **Peligro:** Agente biológico, químico o físico presente en una superficie que está en contacto con los pacientes o los alimentos y que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.
- d. **Riesgo:** Probabilidad de que ocurra un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro, ocasionado por el contacto con superficies vivas (manipulación) o inertes contaminadas.
- e. **Infección Asociada a la Atención de la Salud (IAAS):** Aquella condición local o sistémica resultante de una reacción adversa a la presencia de un agente infeccioso o a su(s) toxina(s), que ocurre en un paciente en un escenario de atención de salud (hospitalización o atención ambulatoria) y que no estaba presente en el momento de la admisión, a menos que la infección esté relacionada a una admisión previa. Asimismo, incluyen las infecciones ocupacionales contraídas por el personal de salud.

5.3. Requerimientos Básicos

5.3.1. Recursos Humanos

- Biólogo
- Técnico de Laboratorio

5.3.2. Recursos Materiales

- **Equipo biomédico y dispositivos biomédicos**
 - Microscopio
 - Cabina de seguridad
 - Estufa Incubadora
 - Refrigeradora
 - Mechero Bunsen
 - Asa de Siembra de Aro
 - Asa de Siembra de Punta
 - Micropipeta de 1000 µl
 - Tubos de Ensayo
 - Placas Petri
- **Productos Farmacéuticos**
 - Agar base sangre
 - Agar Mac Conkey



- Agar manitol salado
 - Agar Cetrimide
 - Agar Mac Conkey sorbitol
 - Agar XLD (xilosa lisina desoxicolato)
 - Agar TSI (triple azúcar hierro)
 - Agar LIA (lisina hierro)
 - Agar Urea Base
 - Agar MIO (indol Ornitina)
 - Agar Citrato de Simmons
 - Caldo infusión cerebro corazón
 - Agar Müller Hinton
 - Agar Bilis Esculina
 - Agar Sabouraud + Cloranfenicol
 - Agar Baird Parker
 - Agar Violeta Rojo Billis
- **Formatos**
 - **ANEXO N°1: FORMATO N°1:** Materiales de vidrio disponibles.
 - **ANEXO N°2: FORMATO N°2:** Medios de cultivo.
 - **ANEXO N°3: FORMATO N°3:** Ficha de Muestreo.
 - **ANEXO N°4:** Tinción Gram.
 - **ANEXO N°5:** Algoritmo de Identificación de Cocos Gram Positivos.
 - **ANEXO N°6:** Algoritmo de Identificación de Bacilos Gram Positivos.
 - **ANEXO N°7:** Algoritmo de Identificación de Bacilos Gram Negativos y Cuadro de Biodiferenciación de Enterobacterias.
 - **ANEXO N°8: FORMATO N°4:** De Superficies Inertes y Vivas en Servicios y Áreas de atención médica.
 - **ANEXO N°9: FORMATO N°5:** De Superficies Inertes y Vivas en Contacto con alimentos y bebidas.
 - **ANEXO N°10: FORMATO N°6:** De Presencia de Hongos Filamentosos y levaduras en el aire.
 - **ANEXO N°11:** Esquema de Informe Técnico.

VI. DISPOSICIONES ESPECIFICAS

6.1. TIPOS DE EVALUACIONES MICROBIOLÓGICAS AMBIENTALES

a. DE SUPERFICIES INERTES EN SERVICIOS Y ÁREAS DE ATENCIÓN MÉDICA

Contempla la evaluación microbiológica en las áreas críticas y semi-críticas de los servicios de atención al paciente, evaluando la presencia de bacterias en las superficies externas del mobiliario, equipos y dispositivos que entran en contacto con las manos del personal de salud, así como del paciente. Se realiza para contribuir en la vigilancia de Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud.

b. DE SUPERFICIES VIVAS EN MANOS DE PERSONAL DE SALUD

Es la evaluación microbiológica de las manos del personal de salud que trabaja en las áreas críticas y semi-críticas, evaluando la presencia de bacterias en superficies vivas después del lavado de manos, Se realiza para contribuir en la supervisión de higiene de manos.



c. DE PRESENCIA DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS EN EL AIRE

Se realiza la evaluación microbiológica del aire de los ambientes de áreas críticas y semi-críticas para evaluar la presencia de hongos filamentosos y levaduras mediante la sedimentación pasiva en placas Petri. Se realiza para evaluación de la calidad microbiológica del aire y el riesgo de una infección micótica por la calidad del aire en pacientes inmunocomprometidos.

d. DE SUPERFICIES INERTES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS

Esta evaluación se realiza en el Servicio de Nutrición y Dietética sobre las superficies inertes, que son las partes externas y/o internas de los utensilios que están en contacto con los alimentos, por ejemplo, equipos, mobiliario, vajilla, cubiertos, tabla de picar, etc. Se realiza para contribuir en la vigilancia y control de la inocuidad alimentaria en la preparación y expendio de alimentos a personal de salud y pacientes hospitalizados.

SERVICIOS EVALUADOS

La selección de servicios médicos para la evaluación microbiológica se fundamenta en las áreas categorizadas como áreas críticas y semi-críticas, a las directrices de vigilancia de IAAS establecidas en la Norma Técnica de Salud para la vigilancia de las infecciones asociadas a la atención de la salud (RM N°523-2020-MINSA) y antecedentes epidemiológicos.

6.2. LAVADO Y ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES

a. Responsable de la Actividad

La responsabilidad del lavado y esterilización de materiales de vidrio, preparación y esterilización de torundas de algodón y gasas para la preparación de medios de cultivo y medios de transporte en la toma de muestras, está a cargo principalmente del Técnico de laboratorio, siendo apoyado por el Biólogo, en caso de un número mayor de materiales o por coordinación de ambos. El manejo de la autoclave para material sucio y el esterilizador de calor seco está a cargo del personal encargado de bioseguridad del área de esterilización del Laboratorio de microbiología.

b. Procedimiento

- Los materiales de vidrio o plástico que contengan material biológico se empaquetan en bolsas de bioseguridad y autoclavan a 121 °C por 30 minutos.
- Después de ser autoclavados los materiales de plástico son eliminados como residuos biocontaminados y los de vidrio pasan a la secuencia de lavado, previamente eliminando el contenido autoclavado al fregadero.
- Lavar con detergente enzimático los materiales de vidrio autoclavados o que no hayan tenido contacto con material biológico. Realizar un último enjuague con agua destilada, posteriormente poner a escurrir y secar el material lavado.
- Los materiales de vidrio seco, las torundas de algodón y gasas pasan por un proceso de esterilización en calor seco en una estufa a 160°C por 60 minutos.

c. Frecuencia y Duración

El lavado y esterilización del material se realiza inmediatamente después de haber culminado el uso del envase de plástico o vidrio, pudiendo realizarse como máximo al día siguiente. La duración de la actividad es de 3 horas en caso de material autoclavado y de 24 horas en el caso de material autoclavado, lavado y esterilizado.



d. Reporte o Registro

Se registra en el **ANEXO N°1: FORMATO N°1: MATERIALES DE VIDRIO DISPONIBLES**. En el que describe la cantidad de material de vidrio disponible para: Preparación de medios, medios de transporte y cultivo.

6.3. PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS

Este procedimiento describe las consideraciones previas a la toma de muestras para cultivos microbiológicos, dentro de las que incluye el abastecimiento, la preparación de medios de cultivo y la conservación de medio de cultivos preparados.

a. Responsable de la Actividad

La responsabilidad de preparación medios de cultivo microbiológico, está a cargo principalmente del Técnico de laboratorio, siendo apoyado por el Biólogo en caso de un número mayor de materiales o por coordinación de ambos.

b. Procedimiento

- Pesar y suspender el medio en polvo o granulado en agua purificada conforme a las instrucciones del producto en gr/L, mezclar hasta obtener una solución homogénea.
- Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto para disolución total.
- Autoclavar a 121°C durante 15 minutos, algunos medios no pasan por esta etapa y solo pueden ser hervidos por 1 minuto, es necesario leer las instrucciones de cada producto.
- Se continua con el plaqueo y distribución de los diferentes medios en sus respectivos recipientes (tubos de ensayo o placas Petri), todo ello se realiza en un espacio aséptico (cabina de bioseguridad o mechero Bunsen).
- Los medios preparados y distribuidos en sus respectivos recipientes son incubados en aerobiosis, a 33-37 °C durante 18-24 horas para descartar contaminación.
- Pasada la prueba de contaminación, los tubos y placas son rotulados, registrados y mantenidos en refrigeración a 2-8 °C.

c. Frecuencia y Duración

La preparación es conforme a la necesidad y disponibilidad de cada medio de cultivo, previa revisión del **FORMATO N°2: MEDIOS DE CULTIVO**.

d. Reporte o Registro

Se registra en el **ANEXO N°2: FORMATO N°2: MEDIOS DE CULTIVO**. En este formato describe la cantidad disponible, fecha de preparación, nombre del operador, etc.

6.4. TOMA DE MUESTRAS

a. Responsable de la Actividad

La Toma de muestra está a cargo del Biólogo conjuntamente con el Técnico de laboratorio.

b. Procedimiento

➤ Hisopados de superficies inertes:

- Se determina el número de puntos de muestreo conforme al número de ambientes a evaluar y se hace el hisopado en las superficies más relevantes del mobiliario, equipos, dispositivos y utensilios en los servicios de atención al paciente o la preparación de alimentos que entran en contacto con las manos del personal de salud o alimentos.



- Humedecer el hisopo en 10mL de solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con movimientos de rotación para quitar el exceso de solución. Tomar una muestra de un cuadro o círculo de un área aproximadamente 10 cm por 10 cm (100 cm²), primero en una dirección y después en la contraria, en zigzag. Las muestras se obtendrán mediante hisopado rotatorio en cada zona.
- Regresar el hisopo en la solución diluyente y enjuagar suavemente, quebramos la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual se eliminada.
- Para superficies irregulares se frota el hisopo en un área aproximada de 100 cm², se consideran las áreas que está en contacto con las manos del personal y/o del paciente.

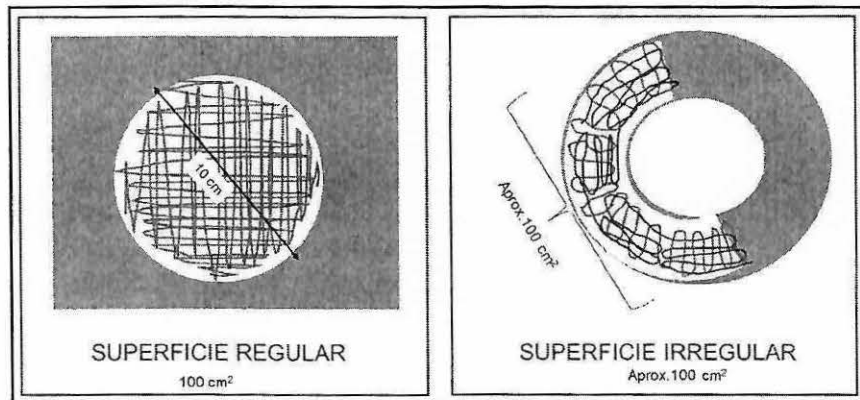


Imagen N°1. Métodos de hisopado en superficies inertes.



Imagen N°2. Métodos de hisopado en manos del personal de salud.



➤ **Muestreo de superficies vivas:**

Hisopado de manos:

- Humedecer el hisopo en 10mL de solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con movimientos de rotación para quitar el exceso de solución.
- Realizar el hisopado de dos puntos clave para el muestreo, la zona interdital e hioniquio (zona del borde distal de las uñas en unión a pulpejos de dedos) de los 5 dedos. Las muestras se obtendrán mediante hisopado rotatorio en cada zona.

Enjuague de manos:

- Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.
- Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
- Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante (01) minuto.
- Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se anuda la bolsa y ésta se coloca en otra bolsa para que esté segura; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.

➤ **Sedimentación pasiva de placas ambientales:**

Para la determinación cualitativa de hongos filamentosos y levaduras en el aire se realiza el método de exposición de placas con medios de cultivo.

- Para este método se deja en exposición placas Petri con Agar Sabouraud + Cloranfenicol durante 30 minutos.
- Tapar y coleccionar las placas expuestas para que sean llevadas a incubadora para su crecimiento.

Todas las muestras se deben colocar en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar de la vida útil de las muestras durante el transporte al Laboratorio de Microbiología. Todas las muestras coleccionadas son llevadas a una incubadora para su crecimiento en aerobiosis a una temperatura de 36 °C.

c. Frecuencia y Duración

El muestreo es la primera etapa de una evaluación microbiológica y estas son realizadas conforme a la Programación Anual de Evaluaciones Microbiológicas Ambientales en la que se presenta las evaluaciones programadas para todo el año, adicionalmente se realizaran evaluaciones solicitadas por los servicios y las realizadas ante un reporte de riesgo sanitario microbiológico o surgimiento de brote. El proceso de toma de muestras tiene una duración aproximada de entre 30-60 minutos y varía en función de la cantidad de ambientes propuestos.

d. Reporte o Registro

El muestreo se debe registrar en el **ANEXO N°3: FORMATO N°3: FORMATO DE MUESTREO DE CAMPO**. En el que se detalla:

- Servicio evaluado
- Fecha de muestreo
- Número de ambientes
- Número y descripción de puntos de muestreo
- Numero de placas petri expuestas
- Hora de inicio y termino



6.5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

En esta etapa se describe la parte analítica de la evaluación microbiológica y contempla la aplicación de métodos y técnicas para el cultivo e identificación de microorganismos. Los procedimientos seleccionados serán en base al organismo a identificar y el objetivo de la evaluación microbiológica.

a. Responsable de la Actividad

La responsabilidad del procesamiento de muestras está bajo la dirección del Biólogo, con el apoyo del Técnico de laboratorio.

b. Descripción de la Actividad

b.1. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SUPERFICIES INERTES Y VIVAS EN SERVICIOS DE ATENCIÓN MÉDICA

MATERIALES Y EQUIPOS

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Equipo de protección personal (mandil, guantes, gorro, mascarilla) - Microscopio - Incubadora a 37 °C - Refrigeradora - Cabina de bioseguridad - Mechero bunsen - Reactivo de Kovacs - Peróxido de Hidrogeno - Agua estéril - Aceite de inmersión - Solución de Urea 40% - Frasco gotero - Marcador de vidrio - Lápiz punta de diamante - Papel toalla - Gradilla - Alcohol 70% - Placas Petri de 90 mm - Hisopos de madera estéril | <ul style="list-style-type: none"> - Tubos de ensayo de 12 x 75, 16 x 100, 16 x 150 mm - Asa de siembra de aro 5 µl - Asa de siembra de punta - Batería de coloración Gram (cristal violeta, Lugol Gram, decolorante Gram, Safranina) - Batería de coloración Ziehl Neelsen (fucsina fenicada, alcohol ácido, azul de metileno) - Tiras reactivas de oxidasa - Discos de sensibilidad de Novobiocina - Micropipeta de 1000 µl - Punteras amarillas - Bajalengua - Tubos vacutainer con citrato - Bolsa de residuos biocontaminados autoclavables |
|---|--|

MEDIOS DE CULTIVO

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Agar base sangre - Agar Mac Conkey - Agar manitol salado - Agar Cetrimide - Agar Mac Conkey sorbitol - Agar XLD (xilosa lisina desoxicolato) - Agar TSI (triple azúcar hierro) | <ul style="list-style-type: none"> - Agar LIA (lisina hierro) - Agar Urea Base - Agar MIO (indol Ornitina) - Agar Citrato de Simmons corazón - Agar Müller Hinton - Agar Bilis Esculina - Medio Glucosa O/F |
|--|--|



➤ **Procesamiento Inicial:**

Sembrado en Medios Primarios:

- Los hisopados de superficies inertes y vivas son colectados en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de Caldo Infusión Cerebro Corazón.
- Incubar los tubos en aerobiosis a 37 °C por 24 horas, algunos organismos requieren 24 horas adicionales.
- Los tubos positivos a crecimiento con enturbiamiento del medio deben ser sembrados en placas Petri con medios primarios selectivos (Agar MacConkey, Manitol salado, Agar Sangre), tomando una muestra con el asa de siembra, estriar sobre cada placa, todo esto en un área de sembrado estéril usando el mechero Bunsen.
- Rotular e incubar las muestras en aerobiosis a 37 °C por 24 horas, las muestras negativas a crecimiento, incubarlas por 24 horas más.

Coloración Gram:

Es un tipo de tinción que se realiza sobre las bacterias para observar su diferenciación al microscopio. Según la distribución del peptidoglicano de la pared celular que las envuelve, se tiñen de una forma u otra. Así, las bacterias que se tiñen de rosado mediante esta técnica se denominan Gram -. Las Gram positivas tienen una pared celular mucho más gruesa, formada por un gran número de capas de peptidoglicanos entre las que se inserta la tinción Gram, dando un color violeta intenso al microscopio y se clasifican como Gram +.

- Hacer una coloración Gram de las colonias y observar al microscopio.
- Aplicar el procedimiento descrito en el **ANEXO N°4**.
- En el microscopio las láminas teñidas, se debe observar la coloración, forma y agrupamiento de las bacterias para una primera etapa de identificación.

IDENTIFICACIÓN DE COCOS GRAM POSITIVOS

Las principales bacterias que presentan la forma bacteriana de cocos pertenecen a los géneros de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, en los que hay que realizar la diferenciación en base a la morfología de la colonia, tipo de hemólisis, agrupación de los cocos, así como de las pruebas de reacción, susceptibilidad y crecimiento en medios de aislamiento. El Algoritmo de identificación de cocos Grampositivos se describe en el **ANEXO N°5**, a continuación, se detallan los procedimientos de las pruebas necesarias descritas en el Algoritmo de identificación.

➤ **Condiciones Generales:**

- Los cocos Gram positivos tendrán crecimiento sobre los medios primarios de Agar Manitol Salado y Agar Sangre.
- Después de realizada la coloración Gram, se realiza la observación al microscopio, sobre las bacterias que presentan forma de cocos, se debe identificar como están agrupados; los estafilococos se agrupan generalmente en racimos, con diferencia de los estreptococos y enterococos que se agrupan en pares o cadenas.
- Considerar sobre el Agar Manitol Salado la forma y tamaño de la colonia, así como el color de la colonia y del halo formado:
 - * **Fermentadores de manitol:** Colonias de color amarillo rodeada o no de un halo amarillo.



- * **No fermentadores de manitol:** Colonias del color del medio, rosas rodeadas o no de un halo rosa-purpura.
- Considerar sobre el Agar Sangre la forma, relieve, borde y tamaño de la colonia, así como el tipo de hemolisis (carácter importante en estreptococos):
 - * **Gamma hemolisis (γ):** Ausencia de lisis total de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia.
 - * **Alfa hemolisis (α):** Lisis parcial de los glóbulos rojos del agar. Se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia.
 - * **Beta hemolisis (β):** Lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, como una decoloración total del medio alrededor de la colonia.

Prueba de la Catalasa:

Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno.

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio.
- Agregar una gota de H_2O_2 al 3 % usando un gotero, no es necesario mezclar el cultivo con el H_2O_2 .
- Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas) lo que indica una catalasa positiva, de lo contrario se considera catalasa negativa.
- Desechar el portaobjetos colocándolo en una caja de residuos punzocortantes.

Nota: Al coger la colonia con el asa de siembra tener cuidado de no llevar algo del medio de agar sangre debido a que la catalasa presente en los eritrocitos, pueden dar resultados falsos positivos.

Prueba de la Coagulasa:

Se realiza para comprobar la facultad de la bacteria de coagular el plasma por acción de la enzima coagulasa, la cual aumenta la velocidad de coagulación del plasma. El resultado final es la formación de un coágulo de fibrina. Se realiza para la identificación de *Staphylococcus aureus*.

- Transferir una colonia aislado del agar sangre a 0,5 ml de plasma reconstituido (en un vidrio estéril de 13x100).
- Girar el tubo suavemente para lograr la suspensión del organismo. No agitar.
- Incubar la mezcla a 35- 37 °C (en baño maría de preferencia) por 4 horas; observar si hay formación de coágulo inclinando lentamente el tubo.
- Observar cuidadosamente si aún hay formación de coágulos inclinando lentamente el tubo (sin agitar) en intervalos hasta 4 horas. Cualquier grado de coagulación es una prueba positiva.
- La mayoría de *Staphylococcus aureus* formaran coágulos dentro de una hora.
- Si es negativa a las 4 horas, seguir incubando hasta el día siguiente a temperatura ambiente. Esto es recomendado porque un pequeño número de Cepas de *S. aureus* pueden requerir más de 4 horas para la formación de coágulo. Considerar que *Staphylococcus* produce fibrolisina, la cual puede lisar el coágulo.



Susceptibilidad a la Novobiocina:

La prueba de susceptibilidad a la Novobiocina se realiza para la diferenciación de los Estafilococos coagulasa negativa, son las colonias que después de haberles realizada la prueba de la coagulasa no formaron coagulo de fibrina:

- Usando colonias puras, con un asa bacteriológica, tocar 4 o 5 colonias del mismo tipo morfológico, bien aisladas, de un cultivo de 18-24 h a 35 °C e inocular en solución salina 0.85% estéril hasta obtener la turbiedad parecida al tubo 0.5 del nivel de Mac Farland (aproximadamente 108 microorganismos/mL).
- Empapar un hisopo estéril en suspensión bacteriana, retirar el exceso de líquido comprimiendo contra la pared del tubo y sembrar suavemente, en todos los sentidos, en la superficie de agar Mueller Hinton que deberá estar a temperatura ambiente o a 35 °C.
- Dejar la placa semiabierta en estufa por 5-15 minutos (la placa deberá estar seca para poner los discos de Novobiocina). El tiempo entre la siembra en la placa y la adición de los discos no debe superar 15 minutos.
- Incubar a 35-27 °C por 18-24 horas en aerobiosis.
- Medir el diámetro de los halos en la zona de inhibición con una regla apropiada.
- La resistencia al antibiótico se define como un diámetro de inhibición menor a 14 mm.

IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM POSITIVOS

Los bacilos Gram positivos se diferencian en esporuladores y no esporuladores siendo visible esta característica en el microscopio, para su diferenciación se realizan pruebas de reacción, crecimiento en medios selectivos, morfología de la colonia, observación de esporulados, tipo de hemólisis, tinción Ziehl Neelsen. El Algoritmo de identificación de bacilos Grampositivos se describe en el **ANEXO N°6** a continuación, se detallan los procedimientos de identificación:

➤ Condiciones Generales:

- Los bacilos Gram positivos tendrán crecimiento solo sobre los medios primarios de Agar Manitol Salado y Agar Sangre.
- Después de realizada la coloración Gram, se realiza la observación al microscopio, sobre las bacterias que presentan forma de bacilo, observar la formación y distribución de las bacterias, presencia de esporulados, tamaño y forma.
- Considerar sobre el Agar Sangre la forma, relieve, borde y tamaño de la colonia, así como el tipo de hemólisis:
 - * **Gamma hemolisis (γ):** Ausencia de lisis total de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia.
 - * **Alfa hemolisis (α):** Lisis parcial de los glóbulos rojos del agar. Se observa un halo de coloro verdoso alrededor de la colonia.
 - * **Beta hemolisis (β):** Lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, como una decoloración total del medio alrededor de la colonia.



Prueba de la Catalasa:

Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno.

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio.
- Agregar una gota de H₂O₂ al 3 % usando un gotero, no es necesario mezclar el cultivo con el H₂O₂.
- Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas) lo que indica una catalasa positiva, de lo contrario se considera catalasa negativa.
- Desechar el portaobjetos colocándolo en una caja de residuos punzocortantes.

Nota: Al coger la colonia con el asa de siembra tener cuidado de no llevar algo del medio de agar sangre debido a que la catalasa presente en los eritrocitos, pueden dar resultados falsos positivos.

Coloración Alcohol Acido Resistente - Tinción Ziehl Neelsen

Esta coloración sirve para la identificación de bacilos alcohol ácido resistente (se tiñen de color rojo). Las micobacterias se caracterizan por poseer cierto tipo de ácidos grasos, alcoholes y carbohidratos. Aunque hay muchos ácidos grasos diferentes en las micobacterias, los ácidos micólicos parecen existir solo en las paredes celulares de las nocardias y de las corinebacterias.

Esta prueba se realiza para el diagnóstico de *Nocardia*, cuya coloración es la tinción ácido-alcohol resistente modificada (tinción de Kinyoun), ya que esta bacteria es parcialmente acidorresistente, pudiendo también servir la coloración de Ziehl Neelsen, exponiendo un tiempo menor al decolorante.

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia de 24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio, procurando hacer un frotis uniforme de 2x1 cm en medio de la lámina.
- Coloree con Fucsina fenicada, flamee las láminas por debajo hasta ver que humee, dejar que enfrié, flamear por dos veces más, dejarlos enfriar.
- Lavar con agua de caño suavemente hasta que este no arrastre colorante.
- Decolorar con alcohol ácido, cubriendo el porta objeto
- Deje reposar por 1-2 minutos; laves con agua corriente y escurra. Si aún quedan residuos, aplique nuevamente decolorante, lavándolo posteriormente.
- tinción con Azul de metileno por 30 segundos o 1 minuto.
- Lávelos con agua corriente suavemente por 1 minuto, escúrralos y déjelos secar.



IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM NEGATIVOS

Los bacilos Gram negativos se diferencian en fermentadores (enterobacterias) y no fermentadores, para su diferenciación se realizan crecimiento en medios selectivos y aislamiento, prueba de catalasa, prueba de oxidasa y pruebas bioquímicas. El Algoritmo de identificación de bacilos Gram negativos Y cuadro de Biodiferenciación de enterobacterias se describe en el **ANEXO N°7**, a continuación, se detallan los procedimientos de identificación.

➤ **Condiciones Generales:**

- Los bacilos Gram negativo tendrán crecimiento sobre los medios primarios de Agar Mac Conkey (mayoría) y Agar Sangre.
- Después de realizada la coloración Gram, se realiza la observación al microscopio, sobre las bacterias que presentan forma de bacilo y coloración rosada.
- Considerar sobre el Agar Sangre la forma, relieve, borde y tamaño de la colonia, así como el tipo de hemolisis:
 - * **Gamma hemolisis (γ):** Ausencia de lisis total de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia.
 - * **Alfa hemolisis (α):** Lisis parcial de los glóbulos rojos del agar. Se observa un halo de color verde alrededor de la colonia.
 - * **Beta hemolisis (β):** Lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, como una decoloración total del medio alrededor de la colonia.

Prueba de la Catalasa:

Determina la presencia de la enzima catalasa, esta enzima descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno.

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio.
- Agregar una gota de H_2O_2 al 3 % usando un gotero, no es necesario mezclar el cultivo con el H_2O_2 .
- Observar una inmediata efervescencia (formación de burbujas) lo que indica una catalasa positiva, de lo contrario se considera catalasa negativa.
- Desechar el portaobjetos colocándolo en una caja de residuos punzocortantes.

Nota: Al coger la colonia con el asa de siembra tener cuidado de no llevar algo del medio de agar sangre debido a que la catalasa presente en los eritrocitos, pueden dar resultados falsos positivos.

Prueba 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. Los citocromos son enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfiriendo electrones al oxígeno, con la formación de agua.

- Con un hisopo o bajalengua tomar una muestra de la colonia a evaluar
- Extender la muestra en la tira reactiva de oxidasa
- Esperar de 5-10 segundos para observar la reacción, la muestra positiva para oxidasa se tornará a un color violeta, mientras que las muestras negativas no habrá cambio de color.

Nota: Solo algunas Gram negativas no fermentadoras son oxidasa positivas, siendo esta la primera prueba selectiva.



Agar Cetrimida

Las Gram negativas oxidasa positivas son pasadas al medio de aislamiento selectivo Agar Cetrimida para la detección de *Pseudomonas aeruginosa* y de otras especies del género.

- Con una asa sembrar en superficie por inoculación directa de la muestra estriando o a partir de un caldo BHI o Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 24 horas.
- Observar el crecimiento microbiano, las características de las colonias y la producción de pigmentos.
- La presencia de un color verde-azulado corresponde a producción de plocianina, mientras que un color verde corresponde a la producción de pioverdina y un color rosa claro, rojizo o marrón oscuro corresponde a la producción de piorrubina.
- Examinar las placas bajo luz ultravioleta, ya que la producción de fluoresceína se observa de color amarillo verdoso brillante que difunde en el agar a partir del crecimiento microbiano.

Agar Citrato Simmons (Prueba bioquímica)

Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía.

- Sembrar en tubo con el medio en pico de flauta, utilizar asa de punción estriando solo la superficie a partir de Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 24- 72 horas.
- **Positivo:** Crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta.
- **Negativo:** Ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo.

Agar Urea (Prueba bioquímica)

Medio utilizado para diferenciar microorganismos en base a la actividad ureásica. Se utiliza para identificar bacterias que hidrolizan urea, tales como *Proteus spp.* otras enterobacterias.

- Sembrar en tubo con el medio en pico de flauta, utilizar asa de punción estriando solo la superficie a partir de Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 24- 72 horas.
- **Hidroliza la urea:** El medio de cultivo es de color rosado-rojizo.
- **No hidroliza la urea:** El medio de cultivo permanece de color amarillo.

Agar MIO (Movilidad-Indol- Ornitina) (Prueba bioquímica)

Medio utilizado en la identificación de miembros de la familia Enterobacteriaceae en base a la movilidad, producción de indol y actividad enzimática ornitina decarboxilasa.

- Sembrar en tubo con el medio semilíquido, utilizar asa de punción haciendo una punción profunda a partir de Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 24 horas.
- Observar la movilidad y el color del medio de cultivo. Luego realizar la prueba de indol.



- **Movilidad:**

- **Positivo:** Turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.
- **Negativo:** Crecimiento solamente en la línea de siembra.

- **Ornitina decarboxilasa:**

- **Positivo:** Color púrpura.
- **Negativo:** Color amarillo. A veces se puede desarrollar un color violáceo en la superficie del medio

- **Prueba del Indol:** Agregar al medio de cultivo 3-5 gotas de reactivo de Kovacs.

- **Positivo:** Forma un anillo rosado en la superficie.
- **Negativo:** El color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento.

Agar LIA (Lisina Hierro Agar) (Prueba bioquímica)

Medio de cultivo utilizado para diferenciar microorganismos, especialmente *Salmonella spp.*, basado en la decarboxilación y desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico.

- Sembrar en tubo con el medio en pico de flauta, utilizar asa de punción haciendo una punción profunda y finalizar estriando la superficie a partir de Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 18-24 horas.
- **Decarboxilación de la Lisina:**
 - **Positivo:** Superficie alcalina / profundidad alcalina (pico violeta / fondo violeta).
 - **Negativo:** Superficie alcalina / profundidad ácida (pico violeta / fondo amarillo).
- **Desaminación de la Lisina:**
 - **Positivo:** Superficie rojiza / profundidad ácida. Esto sucede con cepas del género *Proteus*, *Providencia* y algunas de *Morganella spp.*
- **Producción de SH₂:**
 - **Positivo:** Ennegrecimiento del medio de cultivo (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad).
 - **Negativo:** El medio de cultivo permanece sin cambio de color.

Agar TSI (Triple Azúcar Hierro) (Prueba bioquímica)

Medio empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de los hidratos de carbono glucosa, lactosa y sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico.

- Sembrar en tubo con el medio en pico de flauta, utilizar asa de punción haciendo una punción profunda y finalizar estriando la superficie a partir de Agar Mac Conkey.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C por 18-24 horas.
- Observar el color del medio de cultivo y la producción de gas.
 - * **Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo):** El microorganismo solamente fermenta la glucosa.
 - * **Superficie ácida/Profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo):** El microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.
 - * **Superficie alcalina/Profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo):** El microorganismo es no fermentador de azúcares.



- * La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.
- * Ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

b.2. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS EN EL AIRE

MATERIALES Y EQUIPOS

- | | |
|--|---|
| - Equipo de protección personal (mandil, guantes, gorro, mascarilla) | - Papel toalla |
| - Incubadora a 37 °C | - Azul de Lactofenol |
| - Refrigeradora | - Alcohol 70% |
| - Cabina de bioseguridad | - Placas Petri de 90 mm |
| - Mechero bunsen | - Pinzas |
| - Agua estéril | - Cinta adhesiva |
| - Frasco gotero | - Tubos de ensayo de 16 x 150 mm |
| - Marcador de vidrio | - Bolsa de residuos biocontaminados autoclavables |

MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Sabouraud + Cloranfenicol

➤ Procesamiento Inicial:

- Los hongos filamentosos y levaduras muestreadas en las Placas Petri con Agar Sabouraud+ Cloranfenicol deben ser transportados en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, asegurándose que la temperatura del contenedor no sea mayor a 10°C.
- Incubar las muestras en aerobiosis a 37 °C por 48 horas.
- Continuar con incubación a temperatura ambiente por 5 días adicionales, revisando crecimiento a los 2, 3 y 5 días.

Coloración:

Los hongos se colorean con azul de Lactofenol, debido a que este colorante contiene ácido láctico y fenol, el primero actúa como conservante de las estructuras fúngicas y el segundo elimina otros microorganismos contaminantes como las bacterias.

- Se presiona de forma suave el lado adhesivo de una cinta adhesiva sobre la superficie de la colonia, recogiendo una porción del micelio aéreo.
- Posteriormente se coloca la cinta sobre una gota de azul de lactofenol dispuesta sobre la superficie de un portaobjetos, extendiéndola sobre toda la superficie de la cinta.



- Finalmente se observa en un microscopio óptico con objetivo de 40X. Para conservar la muestra se puede colocar un cubreobjetos sobre la superficie de la cinta y sellar las orillas con barniz transparente.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES

Para la identificación de hongos filamentosos y levaduras es importante la revisión de las características macroscópicas de la colonia, así como la caracterización microscópica del cuerpo vegetativo y de estructuras reproductivas, que serán contrastadas con Atlas ara el diagnostico micológico.

CARACTERISITICAS MACROSCÓPICAS	CARACTERISITICAS MICROSCÓPICAS
Crecimiento	Tipo de micelio
Tamaño	Tipo de hifas
Color	Reproducción anamorfica
Pigmentos	Estructuras de reproducción
Aspecto y consistencia	Otros

Tabla N°1: Caracterización en la identificación de hongos filamentosos y levaduras.

TUBO GERMINATIVO (PRUEBA FISIOLÓGICA)

Permite diferenciar las especies de *Candida albicans* de las no *albicans*.

- Suspender un inóculo de la cepa pura de *Candida* con 24 horas de desarrollo en 0,5 mL de suero.
 - Incubar a 35 – 37 ° C por 2h y 30 min.
 - Colocar 2 o 3 gotas de la suspensión en una lámina portaobjeto y cubrir con lámina cubreobjeto y observar al microscopio con objetivo de 40X.
- Positiva:** Se visualiza una estructura elongada que se origina a partir de la levadura.
- Negativa:** No se visualiza tubo germinativo.



b.3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SUPERFICIES INERTES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS (SERVICIO DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA)

MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo de protección personal (mandil, guantes, gorro, mascarilla)
- Incubadora a 37 °C
- Refrigeradora
- Cabina de bioseguridad
- Mechero bunsen
- Agua estéril
- Frasco gotero
- Marcador de vidrio
- Papel toalla
- Gradilla
- Alcohol 70%
- Placas Petri de 90 mm

- | | |
|----------------------------------|---|
| - Hisopos de madera estéril | - Asa de siembra de aro 5 µl |
| - Punteras amarillas | - Micropipeta de 1000 µl |
| - Tubos de ensayo de 16 x 150 mm | - Bolsa de residuos biocontaminados autoclavables |

MEDIOS DE CULTIVO

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| - Peptona bacteriológica | - Caldo infusión cerebro corazón |
| - Agar Baird Parker | - Agar Salmonella Shigella |
| - Agar Violeta Rojo Bilis | |
| - Emulsión de yema de huevo Telurito | |

NORMATIVA REFERENCIAL

Para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas la presente guía se basa en la normativa vigente RM 461-2007 “Guía Técnica para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.

Los ensayos a realizar serán según el tipo de superficie que ha sido muestreada:

ENSAYOS	SUPERFICIES VIVAS	SUPERFICIES INERTES
Indicadores de higiene	Coliformes totales	Coliformes
	Staphylococcus aureus	-----
Patógenos	Salmonella sp., Shigella sp.	Salmonella sp., Shigella sp.

Tabla N°2: Ensayos para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

Fuente: RM 461-2007 “Guía Técnica para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.

Límites Máximos Permisibles:

SUPERFICIES INERTES				
METODO HISOPO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
	Límite de Detección del Método	Limite Permissible (*)	Límite de Detección del Método	Limite Permissible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc / cm ²	< 1 ufc / cm ²	<10 ufc / superficie muestreada	<10 ufc / superficie muestreada



Patógenos	Ausencia /superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia /superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia /superficie muestreada	Ausencia /superficie muestreada
-----------	---	---	---------------------------------	---------------------------------

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

Tabla N°3: Límites máximos permisibles en superficies inertes mediante hisopado para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

Fuente: RM 461-2007 “Guía Técnica para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.

SUPERFICIES				
METODO ENJUAGUE	Superficie Vivas		Pequeñas o Internas	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Limite Permissible (*)	Límite de Detección del Método	Limite Permissible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	<25 ufc / superficie muestreada (**)	<25 ufc / superficie muestreada (**)
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	-----	-----
Patógenos	Ausencia /manos	Ausencia /manos	Ausencia /superficie muestreada	Ausencia /superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Para 4 utensilios.

Tabla N°4: Límites máximos permisibles en superficies vivas e inertes pequeñas por enjuague para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.

Fuente: RM 461-2007 “Guía Técnica para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas”.

Cálculo:

- Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm²).
- Para superficies irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. cuchillas de licuadoras, utensilios como cucharas, vasos, etc).
- Para superficies vivas: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL).
- Para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, entre otros, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. envases, bolsas de plástico).



Expresión de Resultados:

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares: ufc/ cm².
- Para superficies irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cubierto, etc).
- Para superficies vivas: ufc/ manos.
- Para superficies internas: ufc/ superficie muestreada (ej. envases, bolsas de plástico, etc).

➤ Procesamiento Inicial:

Toma de muestra en solución diluyente:

- Los hisopados de superficies inertes y vivas son colectados en tubos de ensayo conteniendo 10 ml de Agua Peptonada al 0.1%
- Mantener la muestra en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción no debe exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

ENSAYOS PARA INDICADORES DE HIGIENE

Agar Violeta Rojo Bilis:

Este es un medio selectivo para la investigación presuntiva y recuento de coliformes en alimentos, productos lácteos y otros materiales de importancia sanitaria.

- Sembrar en una placa Petri que contenga el agar preparado:
 - * **Para propósitos generales:** Estriar directamente sobre la superficie del medio de cultivo.
 - * **Para recuento bacteriano:**
 - En superficie: Sembrar hasta 0,1 ml de la muestra directa o de la dilución apropiada y esparcirla en el medio de cultivo.
 - En profundidad: Inocular hasta 1 ml de la muestra directa o de la dilución. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C durante 18-24 horas. Las placas pueden ser reincubadas durante 24 horas adicionales.
- Observar las características de las colonias.
 - * **Bacterias que fermentan la lactosa:** Colonias rojo púrpura, rodeadas por un halo de precipitación rojizo.
 - * **Bacterias que no fermentan la lactosa:** Colonias del color del medio, incoloras.



Agar Baird Parker:

Medio de alta especificidad diagnóstica, selectivo y diferencial para el aislamiento y recuento de estafilococos coagulasa positiva en alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.

Este medio se completa agregando Emulsión Yema de Huevo con Telurito, se homogeniza con el agar y se distribuye en placas de Petri estériles.

- Sembrar en una placa Petri que contenga el agar preparado, estriando la superficie del medio de cultivo.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C durante 24-48 horas.
- Observar las características de las colonias.
 - * **Bacterias que reducen el telurito de potasio:** Colonias de color grisáceo-negro.
 - * **Bacterias que no reducen el telurito de potasio:** Colonias del color del medio, transparentes.
 - * **Bacterias con actividad lecitinásica:** Halo claro en el medio de cultivo alrededor de la colonia. Puede existir también un halo opaco alrededor de la colonia con un halo claro externo.
 - * **Bacterias sin actividad lecitinásica:** Ausencia de halo claro alrededor de la colonia.

Agar Salmonella Shigella:

Medio de cultivo selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de *Salmonella spp.* y de algunas especies de *Shigella spp.* a partir de muestras en los cuales se sospeche su presencia.

- Sembrar en una placa Petri que contenga el agar preparado, estriando la superficie del medio de cultivo.
- Incubar en aerobiosis a 33-37 °C durante 18-24 horas.
- Observar las características de las colonias.
 - * **Microorganismos fermentadores de lactosa:** Colonias rosadas o rojizas.
 - * **Microorganismos no fermentadores de lactosa:** Colonias del color del medio, incoloras.
 - * **Microorganismos productores de SH²:** Colonias con centro negro.

c. Frecuencia y Duración

La Frecuencia del procesamiento es en cada evaluación microbiológica conforme a la Programación Anual de Evaluaciones Microbiológicas Ambientales en la que se presenta las evaluaciones programadas para todo el año, adicionalmente se realizaran evaluaciones solicitadas por los servicios y las realizadas ante un reporte de riesgo sanitario microbiológico o surgimiento de brote.

La Duración del procesamiento depende de la parte analítica de cada ensayo realizado, siendo de la siguiente forma:

- Procesamiento de muestras de superficies inertes y vivas de Servicios de atención médica: **4-5 días.**
- Procesamiento de muestras de superficies inertes y vivas en contacto con alimentos y bebidas (Servicio de Nutrición y Dietética): **48 horas.**
- Procesamiento de muestras de hongos filamentosos y levaduras en el aire: **6-7 días.**



d. Reporte o Registro

El registro es llenado en formatos de registro de resultados analíticos, según el tipo de procesamiento, pudiendo ser:

- **ANEXO N°8: FORMATO N°4:** DE SUPERFICIES INERTES Y VIVAS EN SERVICIOS Y AREAS DE ATENCIÓN MÉDICA.
- **ANEXO N°9: FORMATO N°5:** DE SUPERFICIES INERTES Y VIVAS EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS.
- **ANEXO N°10: FORMATO N°6:** DE PRESENCIA DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS EN EL AIRE.

6.6. REPORTE DE RESULTADOS

a. Responsable de la Actividad

La responsabilidad del reporte de resultados está a cargo del Biólogo, quien emite los resultados hallados en un Informe Técnico presentado a su Jefatura Inmediata.

b. Descripción de la Actividad

- Los resultados de los ensayos analíticos plasmados en los formatos respectivos son incorporados en un informe técnico.
- El informe técnico es presentado al jefe inmediato del área, con atención al servicio u área evaluado.
- En las evaluaciones programadas, se deberá adjuntar la programación anual de Evaluaciones Microbiológicas Ambientales que sustente su realización.
- En las evaluaciones microbiológicas solicitada por los servicios, se deberá adjuntar el documento de referencia en el que se informa la solicitud y naturaleza de la evaluación que sustente su realización.
- En las evaluaciones microbiológicas ante un reporte de riesgo sanitario o surgimiento de brote, se deberá adjuntar el documento de referencia en el que se informa la solicitud y naturaleza de la evaluación que sustente su realización.

c. Frecuencia y Duración

Para cada evaluación microbiológica ambiental programada, evaluación microbiológica solicitada por los servicios y la realizada ante un reporte de riesgo sanitario microbiológico o surgimiento de brote, se debe presentar el reporte de resultados a través de un informe técnico, en un plazo máximo de 2 días calendarios, a partir del último resultado de los ensayos (07 días de iniciado el muestreo en evaluaciones fúngicas, 05 días en evaluaciones de superficies en servicios de atención médica y 02 días en evaluaciones de superficies en contacto con alimentos y bebidas).

d. Reporte o Registro

El reporte de resultados es emitido en un informe técnico, en el que se detalla desde el muestreo, procesamiento, resultados, conclusiones y recomendaciones, anexando el panel fotográfico correspondiente, la estructura de este documento se describe en el **(ANEXO N°11)**.



VII. RECOMENDACIONES

En el trabajo de laboratorio existe el riesgo de exposición a agentes biológicos, físicos y químicos. Las recomendaciones describen los conceptos básicos que deben conocer y manejar las personas que trabajan en laboratorios clínicos, así como los principios y prácticas aplicables, con el propósito de minimizar los riesgos asociados con los materiales infecciosos trabajados en el laboratorio. Se incluyen además la recomendación de tipos y frecuencia de muestreo.

7.1. NORMAS DE BIOSEGURIDAD

- Es importante que el personal de laboratorio adopte normas de Bioseguridad por encontrarse expuesto a riesgos de contagio, sino guarda dichas normas:
- El laboratorio deberá estar ordenado y limpio; sin otro material que no sea pertinente a los trabajos.
- Las mesas de trabajo serán descontaminadas por lo menos una vez al día y después que cae sobre ellas material contaminado.
- El personal entrenado para trabajar en el laboratorio deberá lavarse las manos después de los 5 momentos establecidos.
- Se descontaminarán todos los desechos líquidos o sólidos contaminados antes de su eliminación o de darles otro destino.
- El personal del laboratorio deberá llevar equipos de protección personal.
- No se debe pipetear material infeccioso con la boca.
- Mientras se llevan a cabo los trabajos las puertas del laboratorio permanecerán cerradas.
- Cualquier derrame peligroso, accidente o exposición manifiesta o potencial a materiales infecciosos, se notificará de inmediato al Jefe de Laboratorio.
- No permitir la entrada en el laboratorio a las personas expuestas al riesgo de adquirir una infección, entre ellos los niños o individuos afectados con inmunodeficiencia o inmunosupresión.
- No se permitirá comer, beber, fumar almacenar alimentos.

7.2. FRECUENCIA DE MUESTREOS

7.2.1. Muestreo Sistematizado

La frecuencia de muestreo se presenta en el cronograma anual de muestreo para el control microbiológico de superficies, manos y aire (Anexo 13). En cada proceso se utilizarán la cantidad de medios de transporte y de cultivo establecidos para cada ensayo.

7.2.2. Durante Estudio de brotes

En una situación de brote, se suspende el muestreo, más no el procedimiento de análisis de muestras ya colectadas, las cuales deberán continuar hasta el reporte final. Se da prioridad al servicio que se encuentre en situación de brote.



VIII. BIBLIOGRAFIA

- Casquero J, Zurita S. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de micosis oportunistas y profundas. Lima: Instituto Nacional de Salud; 1997. Serie de Normas Técnicas N.º 23.
- Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC. *Koneman Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas*. 7ta ed. México DF: Editorial Wolters-Kluwer, 2017.
- RM 461-2007: “Guía Técnica para Análisis Microbiológico en contacto con alimentos y bebidas”.
- Zenteno, D. (2015). *Atlas Digital de Micología “Hongos Contaminantes”*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología.
- Torres – Rodríguez, J. Nuevos hongos patógenos oportunistas emergentes. *Rev. Iberoam. Micol.* 1996. 13: S30 – S38.



IX. ANEXOS

ANEXO N°1

FORMATO N°1: MATERIALES DE VIDRIO DISPONIBLES

MATERIALES DE VIDRIO DISPONIBLE					
<u>DIA:</u>	-	<u>MES:</u>	-	<u>AÑO:</u>	-
<u>INSTRUMENTO</u>	<u>CONDICION</u>				<u>TOTAL</u>
	<u>DISPONIBLE</u>	<u>CON CONTENIDO</u>	<u>SUCIO</u>	<u>QUEBRADO</u>	
Frascos de vidrio de 1 L					
Frascos de vidrio de 500 ml					
Matraz de 1L					
Matraz de 500 ml					
Probeta de 500 ml					
Tubos de 12 x 75 mm					
Tubos de 16 x 100 mm					
Tubos de 16 x 150 mm					



ANEXO N°2
FORMATO N°2: MEDIOS DE CULTIVO

MEDIOS DE CULTIVO	PRODUCTO	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK	FECHA	USO	STOCK
Agar sangre	Placas Petri																								
Agar manitol salado	Placas Petri																								
Agar McConkey	Placas Petri																								
Agar McConkey Sorbitol	Placas Petri																								
Agar XLD	Placas Petri																								
Agar triptona de Soja (TSA)	Placas Petri																								
Agar Saboraud	Placas Petri																								
Agar Cetrimida	Placas Petri																								
Caldo BHI (Brain Heart Infusion)	Tubos																								
Agar agar Type-I, 500g	Placas Petri																								
Caldo Thioglicolate fluid Medium	Tubos																								
Agar Salmonella shigella (ASS)	Placas Petri																								
Agar TCBS	Placas Petri																								
Agar Muller Hinton x500g	Placas Petri																								
Agar hierro triple azúcar (TSI)	Tubos																								
Agar Citrato Simmons	Tubos																								
Lysine Iron Agar (LIA)	Tubos																								
Agar MIO	Tubos																								
Urea agar base	Tubos																								

ANEXO N°3
FORMATO N°3: FICHA DE MUESTREO

DIA:		MES:		AÑO:	
UNIDAD/SERVICIO/AREA:					
HORA DE INICIO:				HORA DE TERMINO:	
N°	LUGAR DE TOMA DE MUESTRA				OBSERVACIÓN
SUPERFICIES INERTES					
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
EXPOSICIÓN DE PLACAS					
001					
002					
003					
004					
005					
006					
007					
008					
009					
010					



ANEXO N°4
TINCIÓN GRAM

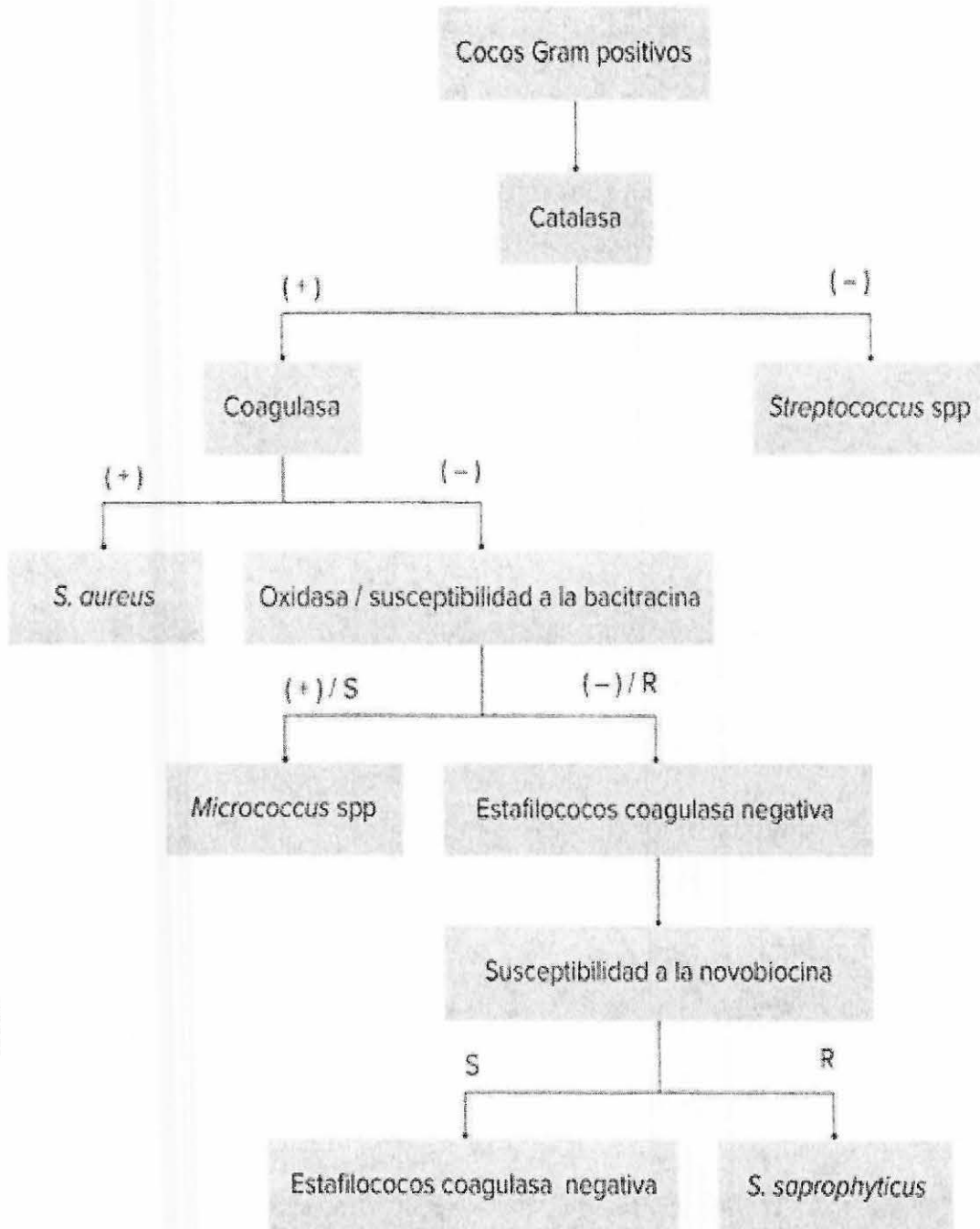
1. Extender la muestra en un portaobjetos limpio
2. Dejar secar al aire
3. Fijar con metal 1 minuto
4. Cubrir el portaobjetos con cristal violeta por 1 minuto
5. Enjuagar con agua
6. Cubrir el portaobjetos con lugol por 1 minuto
7. Enjuagar con agua
8. Decolorar con alcohol-acetona por 20 segundos
9. Enjuagar inmediatamente con agua
10. Cubrir el portaobjetos con safranina por 1 minuto
11. Enjuagar con agua
12. Dejar secar
13. Observar al microscopio

GRAM POSITIVO: morfología teñida color morado
GRAM NEGATIVO: morfología teñida color rosa



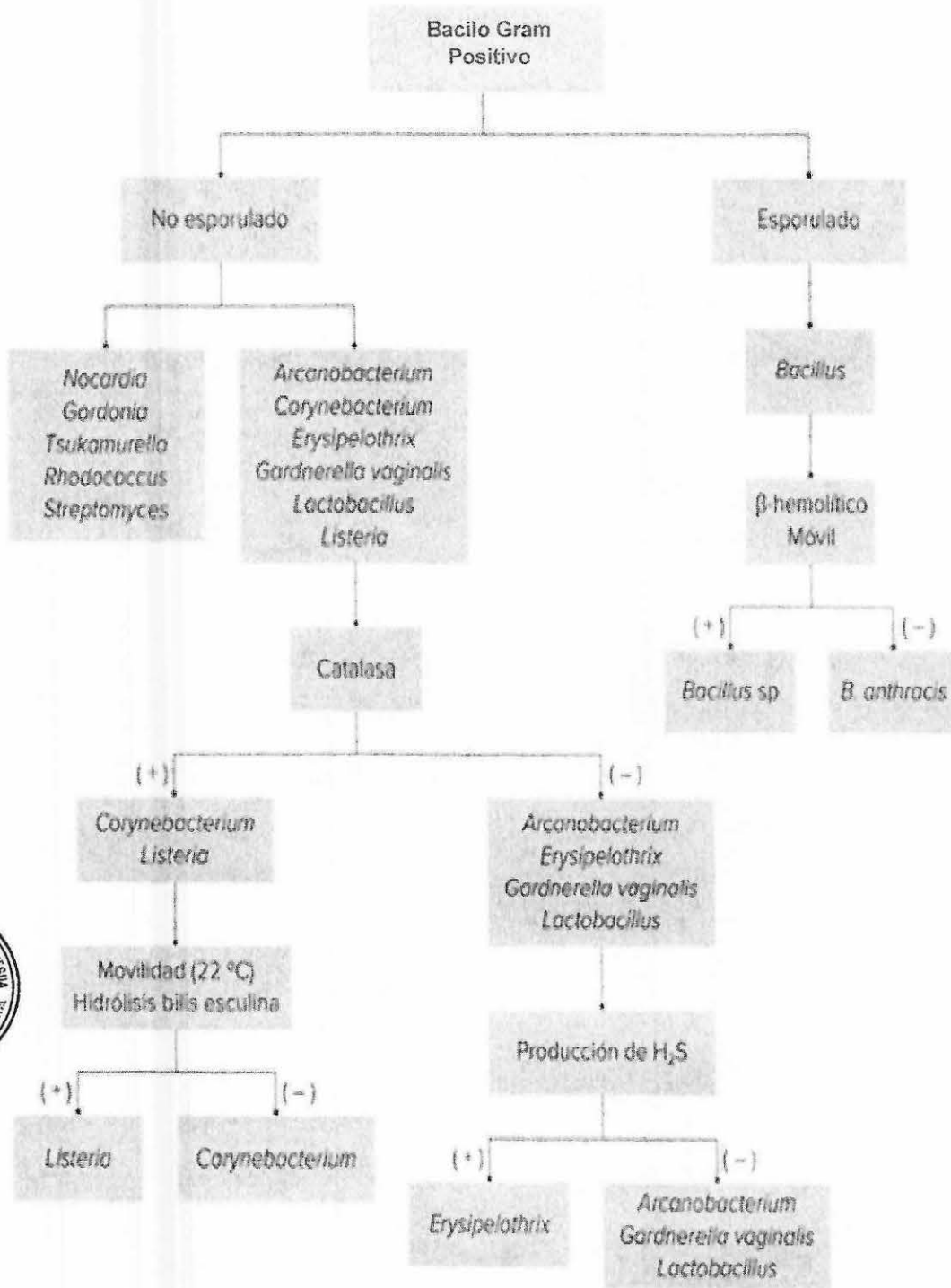
ANEXO N°5

ALGORITMO DE IDENTIFICACIÓN DE COCOS GRAMPOSITIVOS



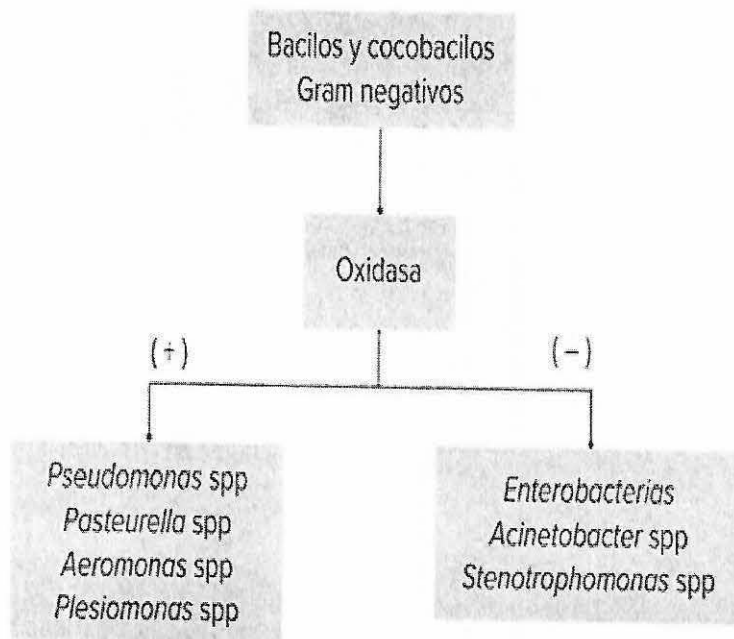
ANEXO N°6

ALGORITMO DE IDENTIFICACIÓN DE BACILOS GRAMPOSITIVOS



ANEXO N°7

ALGORITMO DE IDENTIFICACIÓN DE BACILOS GRAM NEGATIVOS Y CUADRO DE BIODIFERENCIACION DE ENTEROBACTERIAS



H ₂ S POSITIVO									
GAS NEGATIVO	TSI	LIS	H ₂ S	GAS	INDOL	ORNITINA	MOV	UREA	CITRATO
<i>Salmonella typhi</i>	K/A	K/K	-/+	-	-		+	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	K/A	K/K	+	-	-		+	-	+

GAS POSITIVO	TSI	LIS	H ₂ S	GAS	INDOL	ORNITINA	MOV	UREA	CITRATO
<i>Salmonella</i>	K/A	K/K	+	+/-	-	+	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	K/A	R/A	+	+	-	-	+	-/+	+/-
<i>Proteus vulgaris</i>	A o K/A	R/A	+	+/-	+	-	+	+	-
<i>Edwardsiella</i>	K/A	K/K	+	+	+		+	-	-
<i>Arizona</i>	A o K/A	K/K o N	+	+	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter freundii</i>	A o K/A	K/A	+/-	+	-	+/-	+	+/-	+

H ₂ S NEGATIVO									
GAS NEGATIVO	TSI	LIS	H ₂ S	GAS	INDOL	ORNITINA	MOV	UREA	CITRATO
<i>Yersinia pestis</i>	K/A	K/A	-	-	-		-	-	-
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	K/A	K/A	-	-	-		+/-	+	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	K/A	K/A	-	-	+/-		+/-	+/-	-
<i>Shigella</i>	K/A	K/A	-	-	+/-	-	-	-	-
<i>Proteus rettgeri</i>	K/A	R/A	-	-/+	+		+	+	+
<i>Providencia stuartii</i>	K/A	R/A	-	-	+		+/-	-/+	+
<i>Vibrio cholerae</i>	A o K/A	K/K	-	-	+		+	-	+
<i>Pseudomona</i>	K/K o N	K/A o K	-	-	-	-	+	-	+
<i>Serratia rubidaea</i>	A/A	K/K o A	-	-/+	-		+/-	-	+/-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	A o K/A	K/A	-	-/+	-/+		+/-	-/+	+/-
<i>Morganella morganii</i>	K/A	K/A	-	-	+	+	+	+/-	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	A o K/A	K/A	-	-/+	-/+	-	+		

GAS POSITIVO	TSI	LIS	H ₂ S	GAS	INDOL	ORNITINA	MOV	UREA	CITRATO
<i>Salmonella paratyphi A</i>	K/A	A o K/A	-/+	+	-	-	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> L(-)	K/A	K/K o A	-	+/-	+		+/-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	A/A	K/K	-	+	-	-	-	+/-	+
<i>Serratia marcescens</i>	A o K/A	K/K o N	-	+/-	-	-	+	-/+	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	A o K/A	K/K o A	-	+/-	-		+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	A/A	K/K	-	+	-		+	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	A o K/A	K/A o K	-	+	-	+/-	+	+/-	+
<i>Escherichia coli</i> L(+)	A/A	K/K o A	-	+	+	+	+/-	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	A o K/A	K/A	-	+	+		+	+/-	+
<i>Providencia alcalifaciens</i>	K/A	R/A	-	+/-	+		+	-	+



ANEXO N°8

FORMATO N°4: DE SUPERFICIES INERTES Y VIVAS EN SERVICIOS Y AREAS DE ATENCIÓN MÉDICA

DIA:		MES:		AÑO:					
SERVICIO/ AREA:									
CODIGO	Cacteristica colonial MacConkey	Cacteristica colonial Manitol Salado	Cacteristica colonial Agar Sangre	Catalasa	Coagulasa	Oxidasa	GRAM		
							MacConkey	Manitol Salado	Agar Sangre



DIA:		MES:		AÑO:							
SERVICIO/ AREA:											
codigo	OXI	gas	movilidad	indol	ornitina	LIA	TSI	CETRIMIDA	SS	UREA	CITRATO

ANEXO N°9

FORMATO N°5: DE SUPERFICIES INERTES Y VIVAS EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS

DIA:		MES:		AÑO:		
SERVICIO/AREA:						
CODIGO	Característica colonial Coliformes totales	Característica colonial <i>Staphylococcus aureus</i>	Característica colonial patógenos	Unidades Formadoras de Colonias UFC/(cm2, manos)		
				Coliformes totales	Staphylococcus aureus	Patógenos



ANEXO N°10

FORMATO N°6: DE PRESENCIA DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS EN EL AIRE

DIA:		MES:		AÑO:						
SERVICIO/AREA:										
CODIGO	CARACTERISITICAS MACROSCÓPICAS					CARACTERISITICAS MACROSCÓPICAS				
	Crecimiento	Tamaño	Color	Pigmentos	Aspecto y consistencia	Tipo de micelio	Tipo de hifa	Reproducción anamorfica	Estructura de reproducción	otros



ANEXO N°11

ESQUEMA DE INFORME TECNICO

I. OBJETIVOS:

II. ANTECEDENTES:

III. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

3.1. Procedimientos antes de la evaluación microbiológica

3.2. Procedimiento en toma de muestra

3.3. Procedimientos en medios de cultivo

3.4. Identificación de microorganismos

3.5. Lavado y esterilización de materiales

3.6. Reporte de los resultados

3.7. Epidemiología e importancia clínica de los microorganismos aislados

IV. CONCLUSIONES

V. RECOMENDACIONES

VI. ANEXOS

PANEL FOTOGRAFICO

