

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> <b>UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO</b> <b>SECCION MICROBIOLOGIA</b>	Código:	APL-PR-MC-021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Fecha emisión:	21-01-2021
		Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 1 de 10	

## 1. OBJETIVO

Estandarizar los procedimientos de diagnóstico microbiológico de micosis superficiales y profundas, obteniendo resultados oportunos y con altos estándares de calidad.

## 2. CAMPO DE APLICACIÓN Y ALCANCE

Todas las muestras clínicas que requieran estudio de hongos, provenientes de los servicios clínicos del Hospital Guillermo Grant Benavente, de la red de salud Concepción y la red de salud Arauco.

## 3. REFERENCIAS NORMATIVAS

- 3.1. Manual de Micología, Depto de Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina U. Nacional autónoma de México. 2006.
- 3.2. Micología Medica a la Luz de Autores Contemporáneos, Costa, JJ; Gadelha MF. 2004.
- 3.3. Manual de Microbiología Clínica, E.H. Lennette, E.H. Spaulding, J.P. Truant. Salvat. 1970.

## 4. TERMINOS Y DEFINICIONES

- 4.1. **Cepa:** cultivo puro obtenido a partir de una colonia.
- 4.2. **Colonia:** agrupación de microorganismos visible a ojo desnudo presentes en un medio de cultivo sólido que se origina a partir de un individuo que por sucesivas divisiones generan una población de ellos.
- 4.3. **Conidio:** espora asexual generada de una célula conidiogénica de un hongo filamentoso.
- 4.4. **Hifa:** estructura tubular de paredes paralelas que puede o no ser septada. Unidad estructural de los hongos filamentosos
- 4.5. **Siembra:** inoculación de una muestra clínica, cepa bacteriana o fúngica en un agar determinado.

## 5. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

### 5.1. MATERIALES

- 5.1.1. Cubreobjetos de 24x50 mm.
- 5.1.2. Cámara húmeda.
- 5.1.3. Guantes.
- 5.1.4. Pecheras.
- 5.1.5. Caja eliminación elementos corto punzantes.
- 5.1.6. Bisturi estéril.
- 5.1.7. Portaobjetos estériles.
- 5.1.8. Placa petri de vidrio estéril.
- 5.1.9. Asas rectas y curvas.

Elaborado por:  T.M Jonathan Toledo Gutiérrez Tecnólogo Médico Sección Microbiología H.G.G.B.  Fecha: 21-012021	Revisado por:  B.Q Laura Ramos Pérez Encargada de Calidad y bioseguridad Laboratorio Clínico H.G.G.B.  Fecha: 21-012021	Aprobado por:  BQ. Roberto Vega Montanares Director Técnico Laboratorio Clínico H.G.G.B.  Fecha: 21-01-2021
--	--	--

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO SECCION MICROBIOLOGIA	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 2 de 10	

## 5.2. REACTIVOS

- 5.2.1. Solución de Hidróxido de potasio al 10%.
- 5.2.2. Medio de cultivo Saboureaud.
- 5.2.3. Medio de cultivo Cromo Candida.
- 5.2.4. Medio de cultivo Micosel.
- 5.2.5. Medio de cultivo Papa dextrosa.
- 5.2.6. Solución de Azul de Lactofenol.

## 5.3. EQUIPOS

- 5.3.1. Microscopio óptico.
- 5.3.2. Mechero Bunsen.
- 5.3.3. Estufa de cultivo a 25 °C.

## 6. DESARROLLO

- 6.1. El proceso debe cumplir con los requerimientos de bioseguridad del laboratorio indicado el Manual de Bioseguridad del Laboratorio Clínico (APL-MB-DT- 002).
- 6.2. Las muestras con sospecha de hongos pueden ser variadas y dependiendo de su origen o localización dependerá quien y como se realiza la toma de muestra:
  - 6.2.1. **Muestras de micosis profunda** (Tejidos, biopsias): deben ser tomadas por el equipo clínico del paciente (médico, enfermera) en un frasco estéril sin preservantes y enviar inmediatamente después al laboratorio de microbiología (ver Manual de Toma de Muestras MA-APL-HGGB-V3).
  - 6.2.2. **Muestras de micosis superficiales** (muestras de piel, uñas, pelos): deben ser tomadas por un profesional de microbiología y se debe agendar una hora, dependiendo del tipo de paciente:
    - a) Paciente Ambulatorio:
      - El agendamiento se realiza en la recepción de microbiología.
      - Pedir solicitud de examen y cédula de identidad.
      - Programar un día y hora según disponibilidad de agenda en el cuaderno de "Micológicos" del año correspondiente.
      - Entregar por escrito al reverso de la solicitud de examen el día y la hora agendado.
      - Entregar por escrito y verbalmente las condiciones de preparación para que se realice la toma de muestras (ver anexo 1).
    - b) Paciente Hospitalizado:
      - El Médico, Enfermera o él profesional a cargo del paciente llamará o enviará la solicitud de examen a recepción de microbiología.
      - Comunicar vía telefónica al personal a cargo del paciente, las indicaciones que debe tener para que se le realice la toma de muestra (ver anexo 1).
      - El profesional de microbiología acudirá a la sala de hospitalización el mismo día o a más tardar al día siguiente para realizar el procedimiento.
  - 6.2.3. **Toma de Muestra para micosis superficiales**:
    - a) Siempre debe ser realizada por un profesional de microbiología.
    - b) Debe corroborar los datos del paciente con la solicitud de examen y que haya cumplido con las indicaciones dadas al momento de agendar la hora.
    - c) En el momento de ver la lesión el profesional determinará si obtiene la muestra por descamación (raspando) o con una tórula Stuard, si la lesión es húmeda o no se debe raspar (Heridas).

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO SECCION MICROBIOLOGIA	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 3 de 10	

- d) Efectuar antisepsia de la zona comprometida con alcohol al 70%.
- e) Realizar toma de muestra con las consideraciones dependiendo la zona afectada (ver anexo 2).
- f) Tomar cantidad suficiente de muestra desde los bordes de la lesión.
- g) Una vez obtenida la muestra se debe entregar junto a la solicitud de examen al personal del área de recepción de microbiología para su ingreso al sistema informático del laboratorio.

**Nota:** El profesional encargado de Hongos debe asegurar periódicamente que la caja de materiales contenga el stock suficiente para realizar la toma de muestras.

### 6.3. RECEPCIÓN, DIGITALIZACIÓN Y TRACKING DE MUESTRAS PARA ESTUDIO DE MICOSIS SUPERFICIALES Y/O PROFUNDAS

- 6.3.1. Corroborar los datos demográficos de la solicitud de examen y la muestra según el Instructivo de recepción de muestras microbiológicas (APL-IT-MC-140).
- 6.3.2. Ingresar al sistema informático del laboratorio el examen.
- 6.3.3. Generar etiquetas con códigos de muestra y orden.
- 6.3.4. Etiquetar la muestra y solicitud examen.
- 6.3.5. Realizar el tracking de la muestra.
- 6.3.6. Entregar muestra y solicitud de examen al profesional que realizará el estudio de hongos de muestras con sospechas de micosis superficiales y/o profundas.

### 6.4. PREPARACIÓN Y OBSERVACIÓN DE DIRECTO AL FRESCO

- 6.4.1. El profesional de microbiología deberá realizar la preparación en condiciones estériles y bajo mechero.

#### 6.4.2. **Preparación directo al fresco de escamas de piel, pelos y uñas**

- a) Disponer la muestra en un portaobjetos y con ayuda de una pipeta pasteur de vidrio agregar unas gotas de solución de Hidróxido de potasio al 10%.
- b) Mezclar con la punta de un cubre objeto, eliminarlo en residuos biológicos corto punzantes o utilizar el mismo para cubrir la preparación.
- c) Observar al microscopio con aumento 40X.
- d) Si no se va a observar inmediatamente se deberá guardar en cámara húmeda a temperatura ambiente hasta su lectura.

#### 6.4.3. **Preparación directo al fresco de muestras obtenidas mediante tómulas Stuard**

- a) Presionar la tórula Stuard sobre un portaobjetos.
- b) Con ayuda de una pipeta pasteur de vidrio agregar unas gotas de solución de Hidróxido de potasio al 10%.
- c) Mezclar con la punta de un cubre objeto, eliminarlo en residuos biológicos corto punzantes o utilizar el mismo para cubrir la preparación.
- d) Observar al microscopio con aumento 40X.
- e) Si no se va a observar inmediatamente se deberá guardar en cámara húmeda hasta su lectura.

#### 6.4.4. **Preparación directo al fresco de muestras de tejido (Sospecha de Micosis Profunda)**

- a) En una placa Petri de vidrio estéril o mortero también estéril, cortar con un bisturí en trozos pequeños el tejido.
- b) Colocar un trozo de tejido en un tubo khan estéril.
- c) Agregar Hidróxido de potasio al 10% hasta cubrir el tejido
- d) Dejar que se macere el tejido, idealmente hasta el otro día.

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO SECCION MICROBIOLOGIA	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 4 de 10	

- e) Con una pipeta Pasteur estéril agregar unas gotas de la preparación entre portaobjetos y cubreobjetos.
- f) Observar al microscopio con aumento 40X.
- g) Si no se observará inmediatamente se deberá guardar en cámara húmeda hasta su lectura.

6.4.5. Registrar y realizar un informe preliminar en el software de microbiología con los resultados obtenidos en el directo al fresco.

- a) Directo negativo: No se observan elementos fúngicos.
- b) Directos positivos: Informar elementos y estructuras fúngicas observadas (ej, Hifas hialinas septadas y ramificadas.)

#### 6.5. PREPARACION DEL CULTIVO DE HONGOS

7.7.1 Las muestras de escamas de piel, pelos y uñas debe sembrarse en agar Saboureaud y un agar selectivo y/o diferencial para dermatofitos (agar mycosel, papa dextrosa u otro agar comercial que disponga el laboratorio),

7.7.2 Las muestras de tejidos y las tomadas con tómulas Stuard, se deben sembrar en Agar Saboureaud.

7.7.3 Incubar las placas según tipo de muestra:

- a) La muestra de escamas de piel, pelos y uñas se incuba a 25°C durante 15 días con un máximo de 30 días con vigilancia periódica de crecimiento.
- b) Muestras de tejido y las tomadas con tómulas Stuard se incuban a 35°C durante 72 horas.

#### 6.6. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA.

7.9.1 Si existe desarrollo de colonias sugerentes de hongo filamentosos:

- a) se debe efectuar una preparación de directo al fresco de la colonia:
  - Con ayuda de un asa o con cinta adhesiva obtener de forma cuidadosa parte de la colonia.
  - Disponerla en un portaobjetos.
  - Agregar unas gotas de azul de lactofenol.
  - Mezclar y cubrir con un porta objetos.
  - Realizar lectura en microscopio óptico.
- b) Se debe describir las características macroscópicas de la colonia, su morfología, pigmentación en superficie o anverso (micelio aéreo) como en el reverso del cultivo (micelio vegetativo) (ver anexo 3).
- c) Registrar resultados en software de microbiología.

7.9.2 Si existe desarrollo de levaduras:

- a) Identificar el microorganismo:
  - Realizar traspasando la colonia a agar Chromogénico para levaduras en la cual puede orientar la identificación de *Candidas albicans* de *No albicans* (ver anexo 4).
  - Para levaduras distintas *Candidas albicans* se debe realizar la Identificación por métodos automatizados. (Ver Instructivo Para Estudio De Identificacion Y Susceptibilidad por Equipo Automatizado APL-IT-MC-165)

#### 6.7. INFORME Y VALIDACIÓN DE EXAMEN.

6.7.1. El profesional de microbiología debe interpretar los resultados obtenidos, aplicar criterios microbiológicos para determinar si es correcta la identificación y realizar más pruebas si es necesario.

6.7.2. En resultados sin microorganismos informar como “no hubo desarrollo de Hongos”

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO SECCION MICROBIOLOGIA	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
Página 5 de 10			

6.7.3. En muestras con desarrollo de aislados de microorganismos patógenos se debe informar el nombre del microorganismo.

6.7.4. Validar y generar un informe de resultados en el sistema informático de microbiología.

## 7. RESPONSABLES DE SU APLICACIÓN

7.1. Técnico de Laboratorio de recepción

7.2. Profesional a cargo del examen.

## 8. RESPONSABLES DE LA SUPERVISION

8.1. Encargado de la Sección de Microbiología

8.2. Encargada de Calidad del Laboratorio clínico

## 9. DISTRIBUCIÓN

9.1. Sección Microbiología

9.2. Dirección técnica del Laboratorio clínico.

## 10. DOCUMENTOS ASOCIADOS

N° de Registro	Identificación	Ubicación	Tiempo almacenamiento
APL-MB-DT-002	Manual de Bioseguridad Laboratorio Clínico	Dirección técnica y secciones del Laboratorio Clínico	5 años
MA-APL-HGGB-V3	Manual de Toma de Muestras	Dirección técnica y Secciones del Laboratorio Clínico	5 años
APL-IT-MC-165	Instructivo para estudio de Identificación y susceptibilidad antimicrobiana por equipo automatizado	Dirección técnica y Sección de Microbiología del Laboratorio Clínico	5 años
S/C	Registro informe de resultados	Software Informático de Laboratorio de Microbiología	5 años

## 11. TABLA DE MODIFICACIONES

N° Edición	Pág. Modificada	Motivo de cambio	Nombre Responsable	Fecha
1	Todo	Actualización de formato y modificación de contenido	TM. Angélica Gavilán	10-02-2016
2	Todo	Actualización de formato y modificación de contenido	TM. Jonathan Toledo	27-04-2021

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> <b>UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO</b> <b>SECCION MICROBIOLOGIA</b>	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON</b> <b>ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS</b> <b>SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 6 de 10	

## 12. ANEXOS

- 12.1. ANEXO 1: Instrucciones al paciente de toma de muestras de Hongos en fungemia superficiales.
- 12.2. ANEXO 2: Consideraciones Toma de Muestra de hongos en fungemia superficiales.
- 12.3. ANEXO 3: Características morfológicas de las colonias
- 12.4. ANEXO 4: Características de las colonias de las especies levaduriformes en CHROM-agar candida.

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO SECCION MICROBIOLOGIA	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 7 de 10	

**ANEXO 1: INSTRUCCIONES AL PACIENTE DE TOMA DE MUESTRAS DE HONGOS EN FUNGEMIA SUPERFICIALES.**

**INSTRUCCIONES AL PACIENTE PARA DAR HORA PARA TOMA DE MUESTRA DE HONGOS**

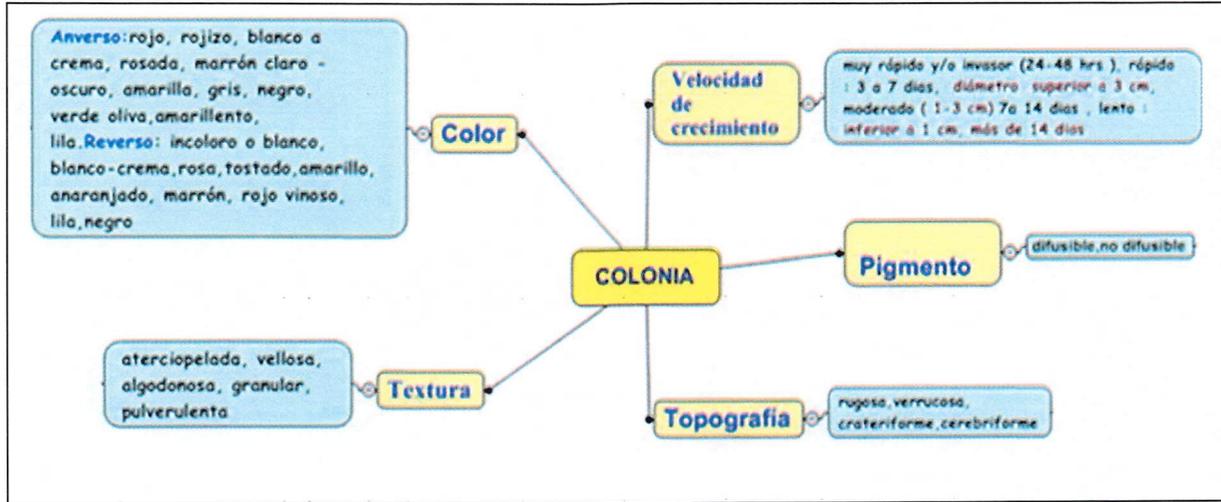
- 1.- No debe estar en terapia con antimicóticos.
- 2.- Si está utilizando un tratamiento antifúngico local (crema), deje pasar al menos 5 días sin aplicarlo, antes de asistir a la toma de muestras.
- 3.- Si está utilizando un tratamiento con medicamento antifúngico oral (tabletas, pastillas), deje pasar al menos 30 días sin tomarlo, antes de asistir a la toma de muestras.
- 4.- Baño previo usando agua y jabón sin desinfectantes.
- 5.- No utilizar ningún tipo de crema dermatológica o cosmética, ungüento o aceites el día de la toma de muestras.
- 6.- Si zona afectada es la uña, debe presentarse sin esmalte de uña.
- 7.- El día de su examen, preséntese en el laboratorio de Microbiología a la hora asignada, ubicado en el tercer piso del Centro de Atención Ambulatoria CAA del Hospital Clínico Regional Guillermo Grant Benavente.
- 8.- No olvide la Solicitud Médica del examen.

	<b>HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE</b> <b>UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO</b> <b>SECCION MICROBIOLOGIA</b>	Código:	APL-PR-MC-021
		Fecha emisión:	21-01-2021
	<b>PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)</b>	Edición:	2
		Fecha vigencia:	21-01-2026
		Página 8 de 10	

## ANEXO 2: CONSIDERACIONES TOMA DE MUESTRA DE HONGOS EN FUNGEMIA SUPERFICIALES

TIPO DE MUESTRA	CONSIDERACIONES TOMA DE MUESTRA
Muestra de Piel	Raspar la piel con bisturí o portaobjeto estéril principalmente de los bordes externos si hay presencia de vesículas deben cortarse
Muestra interdigital	Raspar la piel de la zona, si se encuentra el tejido macerado debe ser tomado con tórula estéril humedecida en suero fisiológico estéril.
Muestra de uñas	Tomar solo de uñas sin pintar y tomar escamas más profundas donde se encuentre el límite entre la uña sana y enferma. Tomar muestra de la zona distal del espacio subungueal donde se acumula la hiperqueratosis
Ornicomicosis superficial	Raspar y tomar escamas de la cara externa de la uña
Muestra de pelo	Limpiar el pelo con alcohol a 70°, arrancar más o menos 10 pelos del borde de la alopecia con pinzas. El cuero cabelludo se debe raspar con bisturí
Muestra de ojos	Tomar una muestra conjuntival con una tórula estéril
Muestra de cavidad bucal	Tomar la muestra raspando con tórula estéril la zona blanquecina
Muestra de región anal, perianal, glande prepucio	Tomar con tórula estéril

**ANEXO 3: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS COLONIAS**



**HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE**  
**UNIDAD DE LABORATORIO CLINICO**  
**SECCION MICROBIOLOGIA**

**PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS CON**  
**ESTUDIO DE HONGOS (MICOSIS**  
**SUPERFICIALES Y PROFUNDAS)**

Código:	APL-PR-MC-021
Fecha emisión:	21-01-2021
Edición:	2
Fecha vigencia:	21-01-2026

**ANEXO 4: CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS DE LAS ESPECIES LEVADURIFORMES EN CHROM-AGAR CANDIDA**

**Cuadro 1. Características de las colonias de las especies levaduriformes en CHROM-agar Candida.**

Especie	Color	Aspecto
<i>Candida</i>		
<i>C. albicans</i>	Verde esmeralda	Lisas, brillantes
<i>C. glabrata</i>	Rosa oscuro	Lisas, brillantes
<i>C. guilliermondii</i>	Rosa, rosa pálido	Planas, brillantes, borde liso
<i>C. krusei</i>	Rosa	Secas, opacas, rugosas
<i>C. parapsilopsis</i>	Rosa pálido	Lisas, brillantes
<i>C. tropicalis</i>	Azul	Lisas, con borde micelial
<i>Geotrichum</i>		
<i>G. candidum</i>	Blanca	Aterciopelada
<i>Rhodotorula</i>		
<i>R. glutinis</i>	Rojo coral	Lisas, húmedas, mucosas
<i>Saccharomyces</i>		
<i>S. cerevisiae</i>	Púrpura, rosa púrpura	Lisas, planas, húmedas
<i>Trichosporon</i>		
<i>T. beigelii</i>	Azul intenso	Secas, rugosas