
 <p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-15</p>
	<p>VERSIÓN: 04</p>

<p>Elaborado o modificado por:</p> <p>Dr. José López Chacón Perito Judicial 2B, Sección Bioquímica</p>	<p>Revisado por Líder Técnico:</p> <p>Dra. Anayanci Rodríguez Quesada Líder Técnico, Sección de Bioquímica</p>
<p>Visto Bueno Encargado de Calidad:</p> <p>Dr. Alejandro Hernández Bolaños Encargado de Calidad, Sección de Bioquímica</p>	<p>Aprobado por:</p> <p>Dra. Eugenia Fernández Mora Jefatura Sección de Bioquímica</p>

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	2014.02.30	20/02/2019	Versión inicial	-	MEE
02	20/02/2019	05/02/2021	Nueva versión que incluye cambio de nombre de documento	03-2019	EFM
03	05/02/2021	24/04/2024	Se elimina punto 7.2.2	06-2021	EFM
04	24/04/2024		Actualización del PON	09-2024	EFM

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-15</p>
<p>VERSIÓN: 04</p>	<p>Rige desde: 24/04/2024</p>	<p>PAGINA: 2 de 8</p>

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

COPIA NO CONTROLADA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 3 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

1 Objetivo:

El objetivo de este Procedimiento Operativo Normado (PON) es establecer los pasos a seguir para el procesamiento de muestras para la determinación de enfermedades de transmisión sexual en la Sección de Bioquímica.

2 Alcance:

Este procedimiento se emplea para el procesamiento de muestras de sangre, orina, medios de transporte y aplicadores para la detección de enfermedades de transmisión sexual solicitada por las autoridades judiciales.

3 Referencias:

- Panfleto para prueba rápida de Clamidia en casete BIOTECH, INC.

4 Equipos y Materiales:

- Asa bacteriológica
- Basurero para descarte de material biopeligroso no punzocortante
- Basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante
- Centrífuga para tubos Thermo Scientific o similar
- Congelador con temperatura a 0 °C
- Cubreobjetos
- Gabacha blanca
- Gradilla para tubos de ensayo
- Guantes desechables de látex o similar
- Incubadora Fisher Scientific o similar con temperatura a 37 °C
- Jarra de anaerobiosis con candela
- Mechero de alcohol
- Microcentrífuga para tubos de plástico tipo eppendorf o similar
- Microscopio óptico Olympus CX23 o similar
- Pipeta Pasteur de plástico
- Placa de medio de cultivo Thayer Martin
- Portaobjetos de vidrio
- Recipiente plástico para descarte de muestras conteniendo cloro al 0,5%
- Refrigerador con temperatura a 4 °C
- Reloj con cronómetro
- Tijeras de metal
- Tira de oxidasa

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 4 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

- Toallas de papel desechables
- Tubo de plástico tipo eppendorf
- Tubo de plástico con tapa de plástico
- Tubo de vidrio de tapa de rosca sin tapa
- Tubo de vidrio con tapa de rosca conteniendo 1 mL de solución salina al 0,85%

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

- Agua del grifo
- Alcohol acetona
- Alcohol 70%
- Cloro 0,5%
- Cristal violeta
- Lugol
- Safranina
- Solución salina al 0,85%

6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento para el procesamiento de muestras para la determinación de enfermedades de transmisión debe efectuarse en las áreas designadas para el análisis de muestras, en el Laboratorio de la Sección de Bioquímica.

7 Procedimiento:

Nota 1: Antes de iniciar cualquier procedimiento colóquese guantes desechables y gabacha, al inicio y al final del procedimiento limpie la mesa de trabajo con una toalla de papel desechable con alcohol al 70%.

7.1 Revisión de la solicitud de dictamen pericial:

7.1.1 Revise detalladamente los datos suministrados y los análisis indicados en la solicitud de dictamen pericial F-083i.

7.2 Procesamiento de muestras de sangre:

7.2.1 Rotule con el nombre de la persona ofendida o imputada según corresponda y el número BQM un tubo de plástico nuevo con tapa de plástico.

7.2.2 Deje que la sangre coagule dentro del tubo recibido.

7.2.3 Centrifugue el tubo con sangre en la centrífuga a 3500 rpm por 7 minutos.

7.2.4 Transfiera el suero obtenido al tubo de plástico rotulado utilizando una pipeta Pasteur plástica y tape el tubo.

7.2.5 Anote en la lista de sueros el nombre de la persona ofendida o imputada según corresponda y el número BQM.

7.2.6 Coloque la muestra en la gradilla correspondiente en refrigeración a 4 °C.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 5 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

7.2.7 Descarte el tubo de sangre recibido en el basurero para descarte de material biopeligroso punzocortante.

7.3 Procesamiento de muestras de orina

7.3.1 Rotule con el nombre de la persona ofendida o imputada según corresponda y el número BQM un tubo de vidrio de tapa de rosca y dos tubos plásticos tipo eppendorf.

7.3.2 Transfiera 9 mL del frasco o tubo con orina recibido utilizando una pipeta Pasteur plástica al tubo de vidrio de tapa de rosca y 1,5 mL a cada uno de los dos tubos de plástico tipo eppendorf.

7.3.3 Centrifugue el tubo de vidrio con orina en la centrifuga a 3500 rpm por 7 minutos y los dos tubos plásticos tipo eppendorf con orina en la microcentrifuga a 15000 rpm por 20 minutos.

7.3.4 Descarte el sobrenadante del tubo de vidrio y de los tubos de plástico tipo eppendorf en el recipiente plástico para descarte de orinas conteniendo cloro al 0,5%.

7.3.5 Guarde los 2 tubos de plástico tipo eppendorf en congelación a 0 °C.

7.3.6 En caso de que soliciten análisis por *Trichomonas vaginalis*, coloque una gota del sedimento urinario en un portaobjetos, coloque un cubreobjetos y observe al microscopio con el lente de 40X según los análisis indicados en la solicitud de dictamen pericial.

7.3.7 Reporte los resultados en el SADCF.

7.3.8 En caso de que soliciten análisis por *Neisseria gonorrhoeae*, dibuje en un portaobjetos un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro y coloque una gota del sedimento urinario, deje secar por al menos 30 minutos en la incubadora a 37 °C, para teñir con Gram en caso de ser necesario.

7.3.9 Rotule una placa de medio de cultivo Thayer Martin con el nombre de la persona ofendida o imputada según corresponda, el número BQM, la fecha y el tipo de muestra (SU).

7.3.10 Realice un rayado utilizando un asa bacteriológica estéril del sedimento urinario en el medio de cultivo Thayer Martin e incube a 37 °C en jarra de anaerobiosis con candela.

7.3.11 Descarte la muestra de orina en el recipiente plástico para descarte de muestras conteniendo cloro al 0,5%.

7.3.12 Descarte el frasco o tubo de orina recibido, en el basurero para descarte de material biopeligroso no punzocortante.

7.3.13 Interprete el resultado a las 24 horas de rayado el medio de cultivo, si es negativo (ausencia de colonias), interprete a las 48 horas de rayado el medio de cultivo.

7.3.14 Si se mantiene negativo a las 48 horas, reporte en el SADCF.

7.3.15 Si es positivo (presencia de colonias), a las 24 o 48 horas de rayado el medio de cultivo, realice la prueba de oxidasa colocando una colonia en la tira de oxidasa.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 6 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

7.3.16 Si la prueba de oxidasa es negativa (ausencia de coloración morada a los 3 segundos), reporte en el SADCF.

7.3.17 Si la prueba de oxidasa es positiva (presencia de coloración morada antes de los 3 segundos), dibuje en un portaobjetos un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro y coloque una gota de solución salina al 0,85% y una colonia del medio de cultivo, deje secar por 30 minutos en la incubadora a 37 °C, tñia con la tinción de Gram (Ver Anexo 1).

7.3.18 Observe la lámina teñida en el microscopio con el lente de 100X y reporte en el SADCF.

7.3.19 Descarte el medio de cultivo, en el basurero para descarte de material biopeligroso no punzocortante.

7.4 Procesamiento de aplicadores en medios de transporte

7.4.1 Rotule con el nombre de la persona ofendida o imputada y el número BQM un tubo de vidrio de tapa de rosca y un tubo de plástico tipo eppendorf.

7.4.2 En caso de que soliciten análisis por *Neisseria gonorrhoeae*, rotule una placa de medio de cultivo Thayer Martin con el nombre de la persona ofendida o imputada según corresponda, el número BQM, la fecha y el tipo de muestra (MT).

7.4.3 Realice un rayado con el aplicador del medio de transporte en el medio de cultivo Thayer Martin e incube a 37 °C en jarra de anaerobiosis con candela.

7.4.4 Coloque el aplicador en un tubo de vidrio conteniendo 1 mL de solución salina al 0,85% y rótelo 15 veces.

7.4.5 Extraiga el aplicador, colóquelo en el tubo plástico tipo eppendorf rotulado, quiebre o corte con tijeras el aplicador de forma que se pueda cerrar el eppendorf y guárdelo en congelación a 0 °C.

7.4.6 Centrifugue el tubo de vidrio en la centrifuga a 3500 rpm por 7 minutos.

7.4.7 Decarte el sobrenadante en el recipiente plástico para descarte de muestras conteniendo cloro al 0,5%.

7.4.8 En caso de que soliciten análisis por *Trichomonas vaginalis*, coloque una gota del sedimento del medio de transporte en un portaobjetos, coloque un cubreobjetos y observe la lámina en el microscopio con el lente de 40X según los análisis indicados en la solicitud de dictamen pericial.

7.4.9 Reporte los resultados en el SADCF.

7.4.10 En caso de que soliciten análisis por *Neisseria gonorrhoeae*, dibuje en un portaobjetos un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro y coloque una gota del sedimento urinario, deje secar por al menos 30 minutos en la incubadora a 37 °C, para teñir con Gram en caso de ser necesario.

7.4.11 Reporte en el SADCF.

7.4.12 Interprete el resultado del medio de cultivo a las 24 horas de rayado, si es negativo (ausencia de colonias), interprete a las 48 horas de rayado el medio de cultivo.

7.4.13 Si se mantiene negativo a las 48 horas, repórtelo en el SADCF.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 7 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

7.4.14 Si es positivo (presencia de colonias), a las 24 o 48 horas de rayado el medio de cultivo, realice la prueba de oxidasa colocando una colonia en la tira de oxidasa.

7.4.15 Si la prueba de oxidasa es negativa (ausencia de coloración morada a los 3 segundos), repórtelo en el SADCF.

7.4.16 Si la prueba de oxidasa es positiva (presencia de coloración morada antes de los 3 segundos), dibuje en un portaobjetos un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro y coloque una gota de solución salina y una colonia del medio de cultivo, deje secar por 24 horas en la incubadora a 37 °C, tiña con la tinción de Gram la muestra oxidasa positiva y la muestra del sedimento del medio de transporte (Ver Anexo 1).

7.4.17 Observe la lámina teñida en el microscopio con el lente de 100X y reporte en el SADCF.

7.4.18 Descarte el medio de cultivo, en el basurero para descarte de material biopeligroso no punzocortante.

7.4.19 [Continúe con el procedimiento indicado en P-DCF-ECT-BQM-43.](#)

7.5 Procesamiento de aplicadores para *Chlamydia trachomatis*

7.5.1 Rotule con el nombre de la persona ofendida o imputada y con el número BQM un tubo de plástico de extracción provisto en el kit de inmunocromatografía de *Chlamydia trachomatis* y un tubo plástico tipo eppendorf.

7.5.2 Coloque el aplicador en el tubo plástico tipo eppendorf rotulado.

7.5.3 Quiebre o corte con tijeras el aplicador de forma que se pueda cerrar el tubo plástico tipo eppendorf.

7.5.4 [Continúe con el procedimiento indicado en P-DCF-ECT-BQM-43.](#)

7.6 Tinción de Gram

7.6.1 Fije la muestra colocando la parte posterior del portaobjetos en la llama del mechero de alcohol por 5 segundos.

7.6.2 Agregue cristal violeta al portaobjetos con la muestra hasta que la recubra.

7.6.3 Deje en reposo por 1 minuto.

7.6.4 Lave con agua del grifo y escurra el exceso de agua.

7.6.5 Agregue lugol al portaobjetos con la muestra hasta que la recubra.

7.6.6 Deje en reposo por 1 minuto.

7.6.7 Lave con agua del grifo y escurra el exceso de agua.

7.6.8 Decolore con alcohol acetona.

7.6.9 Lave con agua del grifo y escurra el exceso de agua.

7.6.10 Agregue safranina al portaobjetos con la muestra hasta que la recubra.

7.6.11 Deje en reposo por 1 minuto.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	VERSIÓN 04	PAGINA: 8 de 8
PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	P-DCF-ECT-BQM-15	

7.6.12 Lave con agua del grifo y escurra el exceso de agua.

7.6.13 Deje secar la lámina a temperatura ambiente.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

N/A

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

N/A

10 Reporte de Análisis y Resultados:

Proceda a reportar los datos obtenidos en el SADCF.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Recuerde colocarse la gabacha y los guantes antes de manipular las muestras.

Debe asegurarse de limpiar el área de trabajo con alcohol de 70%, antes y después de realizar las pruebas.

Evite hacer aerosol al abrir el tubo con la muestra.

Ante una eventual contaminación con la muestra analizada lave la zona afectada con abundante agua y jabón, posteriormente aplique alcohol al 70%. Informe inmediatamente a la Jefatura de Sección lo ocurrido.

Los sobrantes de las muestras de orina y sedimentos se deben descartar en el recipiente plástico para descarte de muestras conteniendo cloro al 0,5%.

12 Simbología:

PON: Procedimiento de Operación Normado

13 Terminología:

N/A

14 Anexos

N/A