
	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

HOSPITAL SANTA CRUZ
 Documento Original
 Fecha: 16 / OCT / 2018
 Calidad y Seguridad del Paciente

	NOMBRE	FECHA	FIRMA
Elaborado por:	Carolina Contalba Cáceres Tecnólogo médico	Octubre 2018	
Revisado por:	Vanessa Cavieres Álvarez Tecnólogo médico	Octubre 2018	
	María José Santana Valenzuela Tecnólogo médico	Octubre 2018	
Aprobado por:	Cesar Rodríguez Duque Tecnólogo Médico Jefe de Laboratorio	Octubre 2018	

Nota: Los documentos exhibidos en formato impreso o copia de ellos son documentos controlados.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

1.- OBJETIVOS

- Contar con un Manual de Procedimientos de Microbiología Clínica que estandarice el método de trabajo en el cultivo, identificación y entrega de resultados en el Laboratorio Clínico del Hospital de Santa Cruz.
- Facilitar el trabajo tanto del Tecnólogo Médico como del Técnico Paramédico en el área de Microbiología Clínica.

2.- ALCANCE

Dirigido a todo funcionario que se desempeñe en la sección de microbiología del Hospital Santa Cruz.


3.- DEFINICIONES

- **PAS** : Placa de agar sangre de cordero al 5%, medio enriquecido que es utilizado en la mayoría de los cultivos.
- **PACH** : Placa de agar chocolate, medio enriquecido para bacterias exigentes.
- **TM**: Agar Thayer Martin, medio selectivo para neisserias.
- **CRO**: Cromo Agar para identificación de Candida.
- **SS**: Agar Salmonella-Shigella, medio selectivo diferencial para salmonella y shigella.
- **TCBS**: Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa, medio selectivo diferencial para la identificación de vibrios.
- **XLD**: agar Xilosa Lisina Desoxicolato, medio selectivo diferencial para shigella y salmonella.
- **UFC**: unidad formadora de colonia
- **ISP**: Instituto de salud pública
- **Tinción de Zielh Neelsen**: técnica utilizada para la identificación de las bacterias alcohol-acido resistente.
- **Tinción BB**: tinción para visualización de campylobacter.
- **Horario hábil**: De Lunes a Viernes de 8:00 a 16:48 horas, exceptuando festivos.

4.- RESPONSABLES

La aplicación de este documento es de responsabilidad de los funcionarios de la Unidad de Microbiología, serología y el resto de los integrantes del laboratorio cuando corresponda, se describen en cada prestación según el procedimiento específico en cada área.

5. DESARROLLO

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

EXÁMENES MICROSCÓPICOS

DIRECTO FRESCO

❖ Materiales

- Cámara húmeda
- Portaobjeto
- Cubreobjeto
- Vortex

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico preparar la muestra para su visualización. Esta se realiza mezclando en el vortex la muestra con suero por 10 segundos, con la Tórula se adicionan 3 gotas sobre el portaobjeto y se cubren con el cubreobjeto, se dejan en cámara húmeda y se avisa al tecnólogo médico para su visualización.

Tecnólogo médico

Es responsabilidad del tecnólogo médico observar la muestra al microscopio, la búsqueda debe ser en 40x.

❖ Interpretación de resultados

Es responsabilidad del tecnólogo médico la interpretación de resultados, se debe buscar la presencia de *Trichomonas vaginales*, células claves, levaduras, células, bacterias y leucocitos y estas se deben informar en el siguiente orden en forma cualitativa (escasas, regular, abundante)

Células

Leucocitos

Bacterias


Trichomonas

Levaduras

❖ Informe de resultados

Los resultados son ingresados al SIL y se informan a las 24 horas.

SEDIMENTO URINARIO

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Materiales

- Tubos cónicos de 15 ml
- Pipetas plásticas
- Cubreobjetos de 18x18
- Portaobjetos
- Cámara húmeda

❖ Procedimiento

Técnico paramédico:

Rotular el tubo cónico con el número de la etiqueta del frasco de orina, homogenizar la muestra por inversión y depositar un volumen aproximado de 10ml en el tubo. Centrifugar por 10 minutos a 1500 rpm.

Eliminar el sobrenadante y homogenizar el sedimento con la pipeta plástica, cargar en portaobjeto y poner cubreobjetos.

Dejar en cámara húmeda.

Tecnólogo médico:

Observar al microscopio en 40x en búsqueda de Células epiteliales, leucocitos, bacterias, eritrocitos.

❖ Interpretación de resultados

Registrar lo observado en el SIL, un recuento alto de leucocitos con bacterias abundante son indicativos de probable infección urinaria.


❖ Informe de resultados

Los resultados son informados para urgencias en 1 hora, para servicios clínicos en 6 horas y para ambulatorios 24 horas.

TINCIÓN DE GRAM

❖ Materiales

- Portaobjetos esmerilado
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol-acetona

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Safranina
- Cronómetro

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico fijar la muestra y teñirla. Se rotula el portaobjeto con el número de petición del SIL Y para realizar la tinción se pasa la tórula con la muestra por el portaobjeto y se pasa un par de veces por el mechero para fijar la muestra.

Para la tinción:

- Coloque los portaobjetos en las varillas sobre el lavadero para tinción y cubra con cristal violeta por 1 minuto.
- Enjuague con agua de la llave con chorro suave.
- Cubra la muestra con Lugol por 1 minuto.
- Enjuague con agua de la llave con chorro suave.
- Cubra la muestra con alcohol-acetona hasta que desaparezca la tinción (aproximadamente 30 segundos)
- Cubra la muestra con safranina por 15 segundos.
- Seque a temperatura ambiente en posición vertical.


Tecnólogo médico

Desde esta etapa en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico

Visualización de resultados:

La lectura se realiza al microscopio en 100x para la búsqueda de bacterias, leucocitos, levaduras según corresponda.

❖ Interpretación de resultados

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

El objetivo principal de la tinción de gram es la visualización de bacterias, por lo que según lo observado podemos distinguir:

- Coloración: Gram positivo, negativo o variable.
- Morfología: cocáceas, bacilos, cocobacilos, bacilos curvos, elementos levaduriformes, hifas, etc.
- Disposición: racimos, cadenas, empalizada, etc
- Presencia o ausencia de células epiteliales (según tipo de muestra).
- Presencia o ausencia de leucocitos.
- Presencia o ausencia de otros elementos.

❖ Informe de resultados

Los resultados son informados al SIL de acuerdo a la observación microscópica y el tiempo de respuesta corresponde a 24 horas.

TINCION DE CAMPYLOBACTER

❖ Materiales

Portaobjetos esmerilado
Cristal violeta
Solución de bicarbonato al 1%


❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico fijar la muestra y teñirla. Se rotula el portaobjeto con el número de petición del SIL Y para realizar la tinción se pasa la tórula con la muestra por el portaobjeto y se pasa un par de veces por el mechero para fijar la muestra.

Para la tinción:

- Coloque los portaobjetos en las varillas sobre el lavadero para tinción y cubra con cristal violeta por y solución de bicarbonato al 1% en partes iguales por 1 minuto.
- Enjuague con agua de la llave con chorro suave.
- Seque a temperatura ambiente en posición vertical.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Tecnólogo médico

Desde esta etapa en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico

- Visualización de resultados:

La lectura se realiza al microscopio en 100x para la búsqueda de formas espirilares de campylobacter (“alas de gaviota”).

❖ Interpretación de resultados

El objetivo principal de la tinción de campylobacter es la visualización de bacterias espiriladas como *Campylobacter jejuni* en forma presuntiva.

❖ Informe de resultados

Los resultados son informados al SIL de acuerdo a la observación microscópica y el tiempo de respuesta corresponde a 1 hora para urgencias, 4 horas para hospitalizados y 24 horas para ambulatorios.

TINTA CHINA

❖ Materiales


- Portaobjetos esmerilado
- Tinta china
- cubreobjetos
- pipetas plásticas

❖ Procedimiento

El procedimiento es responsabilidad del Tecnólogo médico. Se rotula el portaobjeto con el número de la muestra del SIL y se extrae la muestra de LCR del tubo depositando 1 gota en el portaobjeto, luego tomar con una nueva pipeta una gota de tinta china y depositarla sobre la gota de la muestra, homogenizar y cubrir con cubreobjeto.

Observar la lámina en 40x en busca de formas levaduriformes.

❖ Interpretación de resultados

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

El objetivo principal de la tinción es la búsqueda de *Cryptococcus neoformans* del LCR por observación de su cápsula.

❖ Informe de resultados

Los resultados son informados al SIL de acuerdo a la observación microscópica y el tiempo de respuesta corresponde a 1 hora para urgencias, 4 horas para hospitalizados.

TINCIÓN DE LEUCOCITOS FECALES

❖ Materiales

- Portaobjetos esmerilado
- Safranina

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico fijar la muestra y teñirla. Se rotula el portaobjeto con el número de petición del SIL Y para realizar la tinción se pasa la tórula con la muestra por el portaobjeto y se pasa un par de veces por el mechero para fijar la muestra.

Para la tinción:

- Coloque los portaobjetos en las varillas sobre el lavadero para tinción y cubra con safranina por 15 segundos.
- Enjuague con agua de la llave con chorro suave.
- Seque a temperatura ambiente en posición vertical.


Tecnólogo médico

Desde esta etapa en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico.

Visualización de resultados:

La lectura se realiza al microscopio en 100x para la búsqueda de leucocitos.

❖ Interpretación de resultados

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

Se informa en el SIL como negativo o positivo para leucocitos fecales y el tiempo de respuesta corresponde a 1 hora para urgencia, 4 horas para hospitalizados y 24 horas para ambulatorios.

CULTIVOS

COPROCULTIVOS

❖ Materiales

- Agar Mac Conkey
- Agar XLD
- Agar TCBS
- Caldo selenito
- Portaobjetos
- Agar Mac Conkey sorbitol
- Agar SS

❖ Procedimientos

Técnico paramédico


Las muestras son transportadas en el medio de transportador Cary Blair y deben ser sembradas en las siguientes placas; agar mac conkey, agar XLD, agar TCBS, caldo selenito. Además se realizan dos frotis de la muestra uno para leucocitos fecales y otro para campylobacter.

Para niños menores de 5 años se debe agregar agar mac conkey sorbitol. Las colonias sorbitol negativa se deben aglutinar con antisuero ECOO157.

Se debe sembrar cada placa en pentágono e incubar 18 a 24 horas a 37°C. Después de transcurridas las 24 horas se deben resembrar el caldo selenito en agar SS.

Teñir un frotis con tinción BB para campylobacter y otro con safranina para los leucocitos fecales.

❖ Lectura e interpretación de resultados

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Los frotis se observan en 100x en busca de leucocitos y campylobacter y se ingresan al SIL.

Las características físicas de las colonias en los diferentes medios de cultivos se muestran en la tabla n°1.

Las colonias sospechosas de salmonella Vibrio, yersinia o shigella deben ser procesadas a través del sistema vitek 2 para su identificación (ver manual de usuario equipo vitek2).

Las colonias sorbitol negativas se aglutinan con antisuero ECOO157 para la búsqueda de E.coli enteropatógeno.

Tabla n°1 Características de los principales enteropatógenos

Patógeno	Mc conkey	SS	XLD	TCBS
Yersinia	Lac -	Lac -	Amarilla	s/c
shigella sp.	Lac -	Lac -	Roja	s/c
salmonella sp	Lac -	Lac - o H ₂ S+	roja con centro negro	s/c
vibrio sp	s/c	s/c	s/c	Amarilla o verde

s/c: sin desarrollo


La observación de formas características de "alas de gaviota" de campylobacter en el frotis se debe confirmar con el test rápido de inmunocromatografía, su uso esta descrito en el inserto de cada kit.

Cualquiera de estas cepas aisladas se deben enviar a confirmación al ISP.

❖ Informe de resultados

Los resultados negativos serán informados en 72 horas y para los positivos no existe un tiempo definido y dependerá del microorganismo en estudio.

CULTIVO DE SECRECIONES DE PIEL Y HERIDAS

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Materiales

- PAS
- Agar cled
- Agar Mac Conkey
- Portaobjeto
- Caldo tioglicolato

❖ Procedimientos

Técnico paramédico

Las muestras son transportadas en medio amies carbón, se siembran en PAS, agar mac conkey, agar cled y caldo tioglicolato, además se realiza una tinción de gram, se incuban de 24 a 48 horas a 37°C.

Tecnólogo médico

❖ Lectura e interpretación de resultados

Se buscan las colonias sospechosas en los diferentes medios de cultivos y se procesan en el sistema Viteck 2 según corresponda.


❖ Informe de resultados

Los resultados negativos son informados a las 48 horas y los positivos desde las 48 horas en adelante, ya que no tienen un tiempo definido y esto dependerá del tipo de bacteria y su aislamiento.

CULTIVO DE HERIDAS OPERATORIAS (INTRABDOMINALES, HUESOS)

❖ Materiales

- PAS
- PACH
- Mac Conkey
- Caldo tioglicolato
- Portaobjeto

 Hospital Santa Cruz Calle Calles 1000 y 1001 Santiago, Chile	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Procedimientos

Técnico paramédico

- Las muestras son transportadas en frascos estériles de urocultivo y se trasladan de inmediato al laboratorio, se agrega caldo tioglicolato al frasco hasta que cubra la muestra.
- Incubar 18 a 24 horas a 37°C.
- Sembrar la muestra incubada en PAS, PACH y mac Conckey
- Realizar tinción de gram
- Incubar 18 a 24 horas a 37°C.

Tecnólogo médico

❖ Lectura e interpretación de resultados

Se buscan las colonias sospechosas en los diferentes medios de cultivos y se procesan en el sistema Viteck 2 según corresponda.

❖ Informe de resultados


Los resultados negativos son informados a las 48 horas y los positivos desde las 72 horas en adelante, ya que no tienen un tiempo definido y esto dependerá del tipo de bacteria y su aislamiento.

CULTIVO DE SECRECIÓN OROTRAQUEAL O SECRECIÓN BRONCOASPIRADA

❖ Materiales

- PAS
- PACH
- Mac Conckey
- Caldo tioglicolato
- Portaobjeto
- Vortex

❖ Procedimientos

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Técnico paramédico

- Las muestras son transportadas en frascos estériles de urocultivo y se trasladan de inmediato al laboratorio, se agrega caldo tioglicolato al frasco hasta que cubra la muestra.
- Pasar por vortex 10 segundos
- Sembrar la muestra incubada en PAS, PACH y mac Conckey
- Realizar tinción de gram
- Incubar 18 a 24 horas a 37°C.

Tecnólogo médico

❖ Lectura e interpretación de resultados

Se buscan las colonias sospechosas en los diferentes medios de cultivos y se procesan en el sistema Viteck 2 según corresponda.

❖ Informe de resultados


Los resultados negativos son informados a las 48 horas y los positivos desde las 72 horas en adelante, ya que no tienen un tiempo definido y esto dependerá del tipo de bacteria y su aislamiento.

CULTIVO DE CATÉTER (TÉCNICA DE MACKY)

❖ Materiales

- Pinzas metálicas
- PAS
- Parafilm

❖ Procedimiento

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

Tecnólogo médico

Todo el procedimiento está a cargo del tecnólogo médico. Una vez llegado el frasco con la punta de catéter, éste se extrae con la pinza previamente flameada en el mechero y se hace rotar por toda la PAS. Se rotula con la etiqueta de SIL y se incuba con la tapa de la placa hacia arriba 24 a 48 horas a 37°C.

❖ Interpretación de resultados

Los resultados dependerán del número de UFC en crecimiento, un número significativo corresponde a ≥ 15 UFC, por lo que esos recuentos deben estudiarse para identificación y sensibilidad en equipo Vitek2. Los recuentos ≤ 15 UFC no son considerados significativos.

❖ Informe de resultados

Los resultados serán informados desde las 48 horas, los negativos se informan con el recuento de colonias respectivo y los positivos con la identificación bacteriana y su antibiograma según corresponda.


LÍQUIDOS DE CAVIDADES ESTÉRILES

- Líquido cefalorraquídeo (LCR)

❖ Materiales

- Jeringa 1 ml
- PAS
- MacConkey
- PACH
- Frasco de hemocultivo pediátrico
- Torulas de algodón
- Alcohol 70°

❖ Procedimiento


	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Técnico paramédico:

Una vez ingresada la muestra al SIL etiquetar el tubo con las etiquetas correspondientes y centrifugar a 1000 rpm por 5 minutos.

Tecnólogo médico:

- Con una tórula con alcohol al 70° desinfecte la tapa de goma de la botella del frasco de hemocultivo. Abra el tubo blanco con la muestra y separe el sobrenadante del sedimento y con la jeringa aspire alrededor de 300ul de muestra, poner en cada placa una gota del centrifugado y estriar en pentágono, poner además una gota en un portaobjetos para realizar tinción de gram. Recolectar todo el resto del líquido e inocularlo en el frasco de hemocultivo pediátrico.
- Etiquetar el frasco con la etiqueta del SIL correspondiente y registrar en "Libro de hemocultivos" e ingresar al equipo BacAlert (Manual usuario equipo BacAlert), recordar que este tipo de **muestra se incuba por 3 días**.
- Realizar tinción de gram y observar al microscopio en busca de bacterias.
- Si se observa morfología bacteriana en una tinción de Gram, debe ser comunicada de inmediato como **valor crítico**.
- Incubar las placas de PAS y PACH en CO2 al 5%, a 35-36 °C de 18-72 horas. Agar mac conkey incubar 37°C por 72 horas.
- Observar diariamente las placas, en caso de desarrollo bacteriano y proceder a la identificación.
- En caso que la botella sembrada tenga algún recuento significativo de bacterias el equipo emitirá una alerta sonora y visual para la descarga de ésta.
- Con una tórula con alcohol al 70° desinfecte la tapa de goma de la botella del frasco de hemocultivo. Homogenice el frasco por inversión varias veces y con la jeringa pinche el tapón de goma y recolecte alrededor de 300ul. Deposite una gota en cada placa y en el portaobjeto para realizar tinción de gram.
- Los resultados negativos se informan a las 72 horas de incubación.
- En el caso de obtener un líquido con un citoquímico alterado y con cultivo negativo se deben guardar 500 ul del LCR para envío al ISP, ya que se estudiarán los patógenos bacterianos por biología molecular de acuerdo a la circular B51 N°50 2011 "Circular de vigilancia epidemiológica de meningitis bacteriana"

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

2. MUESTRAS PARA PCR EN TIEMPO REAL (RT-PCR)

En las condiciones ya descritas en que el caso sospechoso no logra ser confirmado etiológicamente por el laboratorio local (cultivos negativos), este deberá enviar una muestra de Líquido Céfalorraquídeo al Instituto de Salud Pública.

❖ Interpretación de resultados

Por ser el LCR un líquido estéril, cualquier desarrollo bacteriano debe ser considerado como significativo. Se debe realizar Tinción de gram a las colonias desarrolladas, las cuales nos permiten hacer un diagnóstico presuntivo del probable agente causal. Posteriormente se realizarán las pruebas bioquímicas que correspondan ver "Instructivo de uso equipo vitek2"

❖ Informe de resultados

Si no hay desarrollo bacteriano a las 72 horas se informa como negativo. Los resultados positivos se informan a través del SIL, en caso de obtener algunos de los patógenos de notificación obligatoria de vigilancia de laboratorio los cultivos deben enviarse al ISP:

III.5.2. Envío de cepas y/o muestras al ISP:

Los laboratorios locales de establecimientos públicos y privados deberán enviar al Laboratorio de Referencia Nacional, Sección Bacteriología del ISP:


- **Cultivos positivos:** toda cepa aislada en el nivel local de *N.meningitidis*, *H.influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* y *Listeria monocytogenes*, con 24 hrs. de incubación, en tubo de agar sangre o chocolate o medio de transporte a temperatura ambiente, lo más rápido posible.

Se notifica a enfermera a cargo de epidemiología y al médico tratante del resultado y su envío.

• LÍQUIDO PLEURAL

❖ Materiales

- Jeringa 1 ml
- PAS

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- MacConkey
- PACH
- Tómulas de algodón
- Alcohol 70

❖ Procedimiento

Técnico paramédico:

Una vez ingresada la muestra al SIL etiquetar el tubo con las etiquetas correspondientes y centrifugar a 1000 rpm por 5 minutos. Rotular el frasco de hemocultivos que viene inoculado con la muestra desde el servicio clínico e ingresar al equipo BacAlert ("Manual de usuario rápido para equipo BacAlert").

Tecnólogo médico:

- Eliminar el sobrenadante y sembrar el sedimento en una placa de agar sangre de cordero 5% y agar chocolate suplementado.
- Hacer un extendido del sedimento sobre un portaobjetos y efectuar tinción de Gram.
- Incubar las placas a 35-36 ° C, y en ambiente de CO₂, las que lo requieran.

❖ Interpretación de resultados

Por ser todos estos líquidos estériles cualquier recuento bacteriano debe ser considerado para su estudio de identificación y sensibilidad. Si no existe desarrollo a las 72 horas se informa negativo.

Si existe desarrollo de algún microorganismo se debe avisar como **valor crítico** al servicio correspondiente.


❖ Informe de resultados

Si no hay desarrollo bacteriano a las 72 horas se informa como negativo. Los resultados positivos se informan a través del SIL, en caso de obtener algunos de los patógenos de notificación obligatoria de vigilancia de laboratorio los cultivos deben enviarse al ISP.

● LÍQUIDO PERITONEAL

❖ Materiales

- Jeringa 1 ml

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- PAS
- MacConkey
- PACH
- Torulas de algodón
- Alcohol 70

❖ Procedimiento

Técnico paramédico:

Una vez ingresada la muestra al SIL infinity etiquetar el tubo con las etiquetas correspondientes y centrifugar a 1000 rpm por 5 minutos. Rotular el frasco de hemocultivos que viene inoculado con la muestra desde el servicio clínico e ingresar al equipo BacAlert ("Manual de usuario rápido para equipo BacAlert").

Tecnólogo médico:

- Eliminar el sobrenadante y sembrar el sedimento en una placa de agar sangre de cordero 5% y agar chocolate suplementado.
- Hacer un extendido del sedimento sobre un portaobjetos y efectuar tinción de Gram.
- Incubar las placas a 35-36 ° C, y en ambiente de CO₂, las que lo requieran.

❖ Interpretación de resultados

Por ser todos estos líquidos estériles cualquier recuento bacteriano debe ser considerado para su estudio de identificación y sensibilidad. Si no existe desarrollo a las 72 horas se informa negativo.


Si existe desarrollo de algún microorganismo se debe avisar como **valor crítico** al servicio correspondiente.

❖ Informe de resultados

Si no hay desarrollo bacteriano a las 72 horas se informa como negativo. Los resultados positivos se informan a través del sistema infinity, en caso de obtener algunos de los patógenos de notificación obligatoria de vigilancia de laboratorio los cultivos deben enviarse al ISP

• LÍQUIDO ARTICULAR

❖ Materiales

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Jeringa 1 ml
PAS
MacConkey
Chocolate
Torulas de algodón
Alcohol 70

❖ Procedimiento

Técnico paramédico:

Una vez ingresada la muestra al SIL infinity etiquetar el tubo con las etiquetas correspondientes y centrifugar a 1000 rpm por 5 minutos. Rotular el frasco de hemocultivos que viene inoculado con la muestra desde el servicio clínico e ingresar al equipo BacAlert ("Manual de usuario rápido para equipo BacAlert").

Tecnólogo médico:

- Eliminar el sobrenadante y sembrar el sedimento en una placa de agar sangre de cordero 5% y agar chocolate suplementado.
- Hacer un extendido del sedimento sobre un portaobjetos y efectuar tinción de Gram.
- Incubar las placas a 35-36 ° C, y en ambiente de CO₂, las que lo requieran.


❖ Interpretación de resultados

Por ser todos estos líquidos estériles cualquier recuento bacteriano debe ser considerado para su estudio de identificación y sensibilidad. Si no existe desarrollo a las 72 horas se informa negativo.

Si existe desarrollo de algún microorganismo se debe avisar como **valor crítico** al servicio clínico correspondiente.

❖ Informe de resultados

Si no hay desarrollo bacteriano a las 72 horas se informa como negativo. Los resultados positivos se informan a través del SIL, en caso de obtener algunos de los patógenos de notificación obligatoria de vigilancia de laboratorio los cultivos deben enviarse al ISP.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- **HEMOCULTIVOS AEROBIOS**

- ❖ **Materiales**

- PAS
- MacConkey
- ChocolatePVX
- Portaobjetos
- Jeringas 1cc
- Tómulas de algodón
- Alcohol de 70°

- ❖ **Procedimiento**

Técnico paramédico:

Una vez ingresadas las muestras al SIL Infinity , se etiquetan los frascos y se registran los datos en el libro de hemocultivos (fig2)(registro de la etiqueta con los datos demográficos del paciente).


Para la incubación de frascos de hemocultivos se utiliza el equipo automatizado BacAlert de biomérieux. Para carga y descarga de frascos de hemocultivos consultar el "Manual de usuario rápido para equipo BacAlert".

Los hemocultivos son cultivados por 5 días para ser informados como negativos, si existe desarrollo bacteriano el equipo BacAlert emitirá una alarma sonora y visual y el frasco debe ser extraído del equipo. Adicionalmente se envía desde el equipo una alerta de positividad al SIL Kernmic con los datos de tiempo de positividad de la muestra. (Anexo manual de usuario KernMic).

Tecnólogo médico:

Con una tórula con alcohol al 70° desinfecte la tapa de goma de la botella del frasco de hemocultivo. Homogenice el frasco por inversión varias veces y con la jeringa pinche el tapón de goma y recolecte alrededor de 300ul. Deposite una gota en cada placa y en el portaobjeto, en este último realice un extendido con un cubreobjeto como un frotis sanguíneo para mejorar la visualización microscópica al teñir la muestra.

Realizar la tinción de gram y visualizar al microscopio. En el caso que no se observen bacterias en la tinción se recomienda repetir el procedimiento y verificar los datos del paciente como son recuento de leucocitos los que

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

en algunas ocasiones podrían dar "FALSOS POSITIVOS". Si el resultado de la tinción sigue sin observarse bacterias se deben seguir las recomendaciones que aparecen en el "Manual de usuario equipo BacAlert3D" (Figura N°3)

Prácticas óptimas para evitar los falsos positivos

La investigación en las causas de porcentajes de falsos positivos para los sistemas BacT/ALERT® 3D han resultado en una lista de prácticas óptimas que, si se llevan a cabo, reducirán la aparición de falsos positivos. En este apéndice, los falsos positivos se dividen en dos categorías separadas: Usuario e Instrumento. Se proporcionan descripciones detalladas de condiciones que pueden causar falsos positivos, junto con las prácticas óptimas y/o recomendaciones para evitar estas condiciones.

Cómo evitar los falsos positivos — Usuario

Esta sección describe condiciones que pueden causar falsos positivos que pueden ser evitados por el Usuario.

Alta cantidad de leucocitos (uso clínico)

Más de 10^8 leucocitos por ml de sangre pueden ser producidos por una enfermedad hematológica, tal como la leucemia, o pueden ser consecuencia de una reacción del sistema reticuloendotelial a las infecciones. Estos leucocitos pueden producir altas cantidades de CO_2 . Los frascos pueden marcarse como positivos mediante algoritmos de aceleración o frecuencia.

Práctica óptima N°1 — Cuando no aparece ningún organismo en la tinción Gram, es apropiado utilizar la función de carga de frascos para volver a cargar el frasco (véase Carga de frascos en el capítulo 3 para Uso clínico o Carga de frascos en el capítulo 4 para Uso industrial). El estado pasará de manera predeterminada a negativo hasta la fecha y continuará la incubación para detectar organismos crecientes mientras dure el tiempo máximo del análisis. Véase Tratamiento de frascos positivos no confirmados (falsos positivos) en el capítulo 3 (Uso clínico) o Capítulo 4 (Uso industrial).

Volumen de sangre (o muestra) demasiado alto


Si los frascos se llenan con más de 10 ml de sangre, o fluido corporal turbio, pueden ser marcados como positivos debido al CO_2 producido por las células sanguíneas. Un frasco llenado en exceso puede tener un contenido celular sanguíneo lo suficientemente alto como para activar los algoritmos de aceleración o frecuencia de modo de indicar erróneamente una muestra como positiva.

Incubar las placas de PAS y Mac Conkey a 37°C de 18 a 24hrs y la de PVX en CO_2 a 37°C por 48 hrs.

Efectuar las pruebas bioquímicas y estudios de sensibilidad antimicrobiana que correspondan al tipo de aislamiento. "Instructivo de uso equipo viteck 2.

❖ Interpretación de resultados

Por ser la sangre un líquido estéril, cualquier desarrollo bacteriano es significativo y debe ser interpretado por el clínico en base a los antecedentes del paciente. Al obtener la tinción de gram de la botella del hemocultivo se debe avisar como **valor crítico** al profesional que se encuentre a cargo del paciente.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Informe de resultados

Los hemocultivos son informados como negativos al 5^o día, a excepción de aquellos hemocultivos en que se sospeche de la presencia de algún microorganismo fastidioso, o existe diagnóstico de endocarditis bacteriana en cuyo caso deben incubarse hasta 21 días. Los resultados de las tinciones de gram de los hemocultivos alertados como positivos se deben ingresar al SIL y avisar como valores críticos.

Los resultados positivos no tienen un tiempo de respuesta definido, ya que dependerá de las horas de positividad en que alerte el equipo y el tipo de bacteria a estudiar.

• UROCULTIVO, RECUENTO DE COLONIAS

❖ Materiales

- Placas de agar sangre 5% de cordero
- Placas de agar Mac Conkey
- Tubos de centrifuga cónicos
- Asas calibradas de 0.001 ml (1000col/ml)

❖ Procedimiento


Técnico paramédico:

Siembra.

Las muestras para urocultivos deben ser tomadas por segundo chorro con aseo genital y en frasco estéril. El transporte debe realizarse antes de 4 horas, si no es posible la muestra debe transportarse refrigerada (Manual de toma de muestras APL1.2).

Una vez que llega la muestra a la sección de microbiología se procede a la siembra en PAS y Maconkey, dividida en cuatro partes. Las placas deben estar a temperatura ambiente al momento de la siembra. Se realiza la siembra al lado del mechero, utilizando un asa calibrada de 1ul, por la **técnica del asa calibrada**:

- Rotule las placas a utilizar con el número de la etiqueta autoadhesiva que viene pegada en la parte anterior del frasco.
- Homogenizar la muestra por inmersión 2 a 3 veces evitando la formación de espuma.
- Esterilizar el asa con el mechero sobre la llama

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Introducir el asa flameada y enfriada bajo la superficie de la muestra de orina bien mezclada.
- Sembrar en cada medio una asada de orina, haciendo una línea recta en la parte superior del cuadrante y estriar para obtener colonias aisladas.
- Incubar por 18-24 horas a 37°C
- Adicional mente una vez sembrada la orina se debe separar en un tubo cónico la muestra para sedimento urinario y orina completa según corresponda, este llevara la etiqueta autoadhesiva que se encuentran en la tapa del frasco.
- Una vez sembradas las orinas se transportan las muestras a la sección de ORINAS para su procesamiento.

Tecnóloga médico:

❖ Recuento bacteriano e interpretación

Para el asa de 1ul por cada colonia aislada, esta representa 1000ufc.

Aislamiento de una sola especie bacteriana $>10^5$ UFC/ml indica infección.


$<10^4$ UFC/ml indica contaminación uretral o vaginal. (ver compatibilidad con sedimento de orina).

Entre 10^4 - 10^5 UFC/ml necesita ser evaluado con los antecedentes clínicos: control de tratamiento, mujer embarazada, diabetes mellitus.

Cuando la muestra es tomada por aspirado suprapúbico cualquier recuento se considera significativo.

Las muestras con recuento ≤ 1000 UFC/ml se consideran negativos si además el sedimento urinario es negativo.

En la tabla n° 1 se muestran las principales recomendaciones de interpretación para urocultivos.

 Hospital Santa Cruz <small>del Valle del Cauca</small>	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

Recuento de colonias (UFC/ml)	Condición clínica o método de recolección	Sedimento urinario	Microorganismo(s) aislado(s)	Interpretación/ Conducta recomendable
0	-	Independiente del resultado	-	Urocultivo negativo
Cualquier recuento	Punción suprapúbica	Independiente del resultado	Cualquier microorganismo	Identificación y estudio de susceptibilidad
1.000	Cateterización transitoria	Independiente del resultado	≤ 2 especies uropatógenas	Idem
≥ 10.000	Segunda micción en paciente especial*	Independiente del resultado	≤ 2 especies uropatógenas	Idem
≥ 10.000	Orina por catéter permanente	Patológico	≤ 2 especies uropatógenas	Idem
≥ 10.000	Segunda micción	Patológico	≤ 2 especies uropatógenas	Idem
≥ 100.000	Segunda micción	Patológico	2 uropatógenos + otra bacteria con recuento 10 veces menos	Identificación y susceptibilidad sólo de los uropatógenos
≥ 100.000	Segunda micción	Sin antecedente del sedimento	≤ 2 especies uropatógenas	Identificación y estudio de susceptibilidad
≥ 100.000	-	-	≥ 3 microorganismos, sin predominio de alguno	Polimicrobismo. Solicite nueva muestra

*paciente especial; mujer embarazada, paciente diabético o urológico.


Las muestras con recuentos que requieran estudios de identificación y sensibilidad bacteriana deben ser procesados por el equipo viteck 2 de acuerdo al manual "Instructivo de uso equipo viteck 2".

❖ Informe de resultados

Los resultados negativos son informados a las 24 horas y los positivos desde las 72 horas. Para muestras con recuentos menores a 100.000 UFC y con sedimentos urinarios no sugerentes se informara como muestra contaminada o polimicrobiana según corresponda además del recuento bacteriano.

• CULTIVO DE ABSCESO

❖ Materiales

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Las muestras son transportadas en medio amies, se siembran en PAS, PACH, agar mac conkey y caldo tioglicolato, además se realiza una tinción de gram, se incuban de 24 a 48 horas a 37°C.

Tecnólogo médico

❖ Lectura e interpretación de resultados

Se buscan las colonias sospechosas en los diferentes medios de cultivos y se procesan en el sistema Viteck 2 según corresponda.

❖ Informe de resultados

Los resultados negativos son informados a las 48 horas y los positivos desde las 48 horas en adelante, ya que no tienen un tiempo definido y esto dependerá del tipo de bacteria y su aislamiento.

• ENDOFTALMITIS

❖ Materiales

- PACH
- Portaobjeto
- Jeringa de 1ml

❖ Procedimiento

El procedimiento se realiza directamente por el tecnólogo médico, la muestra se toma en frasco estéril de 1ml por la escasa cantidad de muestra a extraer.


Con la jeringa de 1 ml extraer el volumen de muestra y depositar una gota para el gram y otra para la PACH.

Estriar la muestra sobre la PACH e incubar por 5 días observando a diario la placa.

Teñir gram.

❖ Lectura e interpretación de resultados

Por ser un líquido estéril cualquier microorganismo es significativo.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Se debe observar el gram para correlacionar con el cultivo.

❖ Informe de resultados

Los resultados serán informados en el SIL a los 5 días, si existe resultados positivos se informaran dependiendo del día en que se observe desarrollo bacteriano.

• SECRECIÓN FARÍNGEA

Materiales

- PAS
- Porteobjeto

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

La siembra de la muestra esta cargo del técnico paramédico, solo se siembra en PAS ya que este examen está dirigido para pesquisa de Streptococcus grupo A.

Incubar la placa de 18-24 horas a 37°C.

❖ Interpretación de resultados

Tecnólogo médico

De esta etapa en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico, una vez incubada la placa se observa la placa en búsqueda de colonias beta hemolíticas, las sospechosas se les realiza catalasa y tinción de gram.


Colonias beta hemolíticas, catalasa negativa y cocaeas grampositivas deben ser estudiadas para identificación por viteck 2.

❖ Informe de resultados

Los resultados son informados por el SIL, los negativos a las 48 horas y los positivos desde las 72 horas.

• FLUJO VAGINAL

❖ Materiales

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- PAS
- Gardnerella
- Chocolate
- TM
- KOH
- Agar cromocandida

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Las muestras de para flujos vaginales son tomadas en dos tóruas, una seca y una con 2 ml de suero fisiológico, esta última es utilizada para realizar la observación microscópica del directo fresco y el test de KOH.

La muestra de tórula seca es sembrada en los medios de cultivo, PAS, gardnerella, TM, chocolate y cromoagar cándida. Además se debe realizar un frotis para tinción de gram.

Las placas se cultivan de 18 a 24 horas a 37°C, las placas de gardnerella, chocolate y TM se incuban en jarro con vela.

Tecnólogo médico

Vaciar un par de gotas de la tórula con suero en un portaobjeto y entregar al tecnólogo médico de microbiología. Observar al microscopio en 40X. Buscar Trichomonas, levaduras y clue cell. Para el test de KOH colocar una gota de reactivo sobre el portaobjeto para evidenciar el olor a aminas que indica la positividad de la prueba.


❖ Lectura e interpretación de resultados

La observación microscópica del directo fresco nos servirá para ver la presencia de *Trichomonas vaginalis*, clue cell, levaduras. En la tinción de gram se podrán confirmar estas dos últimas.

Los principales microorganismos de infecciones vaginales corresponden a *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candidas sp.*, los cuales serán identificados por pruebas bioquímicas convencionales o automatizadas según corresponda. Para pruebas automatizadas ver "Instructivo de uso equipo Vitek2".

❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL dentro de las 48 horas.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- **SECRECIÓN VAGINAL**

Materiales

- PAS
- Gardnerella
- Chocolate
- TM
- Agar cromocandida

❖ **Procedimiento**

Técnico paramédico

Las muestras para secreción vaginales son tomadas en medio de transporte amies carbón y están dirigido principalmente para pacientes de la microárea y que el transporte no será de inmediato.

La muestra es sembrada en los medios de cultivo, PAS, gardnerella, TM, chocolate y cromoagar cándida. Además se debe realizar un frotis para tinción de gram.

Las placas se cultivan de 18 a 24 horas a 37°C, las placas de gardnerella, chocolate y TM se incuban en jarro con vela.

❖ **Lectura e interpretación de resultados**

Los principales microorganismos de infecciones vaginales corresponden a *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candidas sp.*, los cuales serán identificados por pruebas bioquímicas convencionales o automatizadas según corresponda. Para pruebas automatizadas ver "Instructivo de uso equipo Vitek2".


❖ **Informe de resultados**

Los resultados negativos se informan en el SIL dentro de las 48 horas.

- **SECRECIÓN NASAL**

❖ **Materiales**

- PAS

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERÍSTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Procedimientos

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico el proceso de siembra. Para la siembra se pasa la Tórula con la muestra por una parte de la PAS, luego se estría por agotamiento con el asa estéril.

Se incuba la PAS de 24 a 48 horas a 37°C.

❖ Interpretación de resultados

Tecnólogo medico

Desde este proceso en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico.

Se observa la placa a las 24 y 48 horas de incubación en búsqueda de colonias beta hemolítica sospechosas de *Staphylococcus aureus*.

Las colonias sospechosas se estudian con tinción de gram, catalasa y látex de coagulasa.

❖ Informe de resultados

Los resultados negativos se informan en el SIL a las 48 horas, los resultados positivos se informan como hubo desarrollo de *S. aureus*, ya que este examen es para búsqueda de este agente en portación.


• SECRECIÓN ÓTICA

❖ Materiales

- PAS
- PACH
- Mac conkey
- Cromocandida
- Portaobjeto
- Caldo tioglicolato

❖ Procedimientos

Técnico paramédico

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Es responsabilidad del técnico paramédico el proceso de siembra. Para la siembra se pasa la Tórula con la muestra por una parte de la PAS, PACH, agar mac conkey, cromocandida luego se estría por agotamiento con el asa estéril, la placas de cromo candida se pasas con Tórula completa por todo el agar y luego se pasa sobre el portaobjeto para la tinción de gram.

- Tioglicolato 24 horas a 37°C.
- Se incuba la PAS, Mac conkey, cromocandida de 24-48 horas a 37°C.
- PACH incuba en jarro con vela 24-48 horas.

❖ **Interpretación de resultados**

Tecnólogo medico

Desde este proceso en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico.

Se observan las placas a las 24 y 48 horas de incubación en búsqueda de colonias sospechosas, se procesan para identificación y sensibilidad según corresponda.

❖ **Informe de resultados**

Los resultados negativos se informan en el SIL a las 48 horas y los positivos desde las 72 horas.


• **PESQUISA DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B)**

❖ **Materiales**

- Caldo Todd Haewitt
- Placas de agar cromo StreptoB

❖ **Procedimientos**

Técnico paramédico

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Esta parte del procedimiento es responsabilidad del técnico paramédico, recibida la muestra en la sección correspondiente a dos tubos secos, uno con muestra vaginal y otra con muestra perianal se agrega caldo todd haewitt hasta tapan la cabeza de coton de cada Tórua.
- Posteriormente se incuban a 37°C de 4 a 18 horas y se resiembra en placas de agar Strepto B por estrias.
- La placa se divide en dos una mitad para la muestra vaginal y otra para la muestra perianal.
- Incubar 24-48 horas a 37°C observando el cambio de coloración.
- Las colonias color lavanda son sospechosas de *streptococcus agalactiae* por lo que se les debe confirmar con un test de camp.

Tecnólogo médico

Desde acá en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico.


- Búsqueda de colonias lavanda, las colonias de otras colonias se consideran negativas.
- Para el test de camp se utiliza una cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 y una cepa conocida de *Streptococcus agalaciae* como control positivo.
- Con un asa estéril tomar una asada de colonias de SAU ATCC 25922 e inocularla en forma de una línea por todo el centro de la placa, posteriormente inocular el asa con la colonia sospechosa y trazar una línea en forma perpendicular la línea de la cepa de SAU ATCC dejando un espacio para la visualización de la hemolisis. Repetir el mismo procedimiento con la cepa control.

❖ Interpretación de resultados

Los resultados con colonias sospechosas de color lavanda y con test de camp positivo (hemolisis en punta de flecha) corresponden a muestras positivas.

Si existe desarrollo de color diferente a lavando o no existe desarrollo el resultado se considera negativo.

❖ Informe de resultados

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Las muestra negativas se informan en el SIL como "NEGATIVO". Las muestras Las muestras positivas se informan como " Hubo desarrollo de *Streptococcus agalactiae*". Los negativos a las 48 horas y las positivas desde las 72 horas.

• **SECRECIÓN URETRAL**

La uretritis es una de las infecciones urigenitales más comunes, el principal patógeno corresponde a *Neisseria gonorrhoeae*.

❖ **Materiales**

- Agar Tayer Martin
- Portaobjetos
- Jarra con vela

❖ **Procedimientos**

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico el proceso de siembra y tinción de gram. Para la siembra se pasa la Tórula con la muestra por todo el agar cubriendo toda la placa, luego se realiza la tinción de gram y se deposita la placa en la jarra con vela, una vez apagada la vela se guarda en la estufa a 37°C por 48 horas

❖ **Interpretación de resultados**


Tecnólogo medico

Desde este proceso en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico. La observación de la tinción de gram de diplococos gram negativos es indicativo de *N. gonorrhoeae*. La observación de este hallazgo se debe correlacionar con el cultivo.

❖ **Informe de resultados**

Los resultados negativos se informan en el SIL a las 48 horas y los negativos desde las 72 horas.

CULTIVOS ESPECÍFICOS PARA:

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Fecha Aprobación: Octubre de 2018
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- **CULTIVO PARA NEISSERIA GONORRHOEAE**

- ❖ **Materiales**

- Agar Tayer Martin
- Portaobjetos
- Jarra con vela

- ❖ **Procedimientos**

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico el proceso de siembra y tinción de gram. Para la siembra se pasa la Tórula con la muestra por todo el agar cubriendo toda la placa, luego se realiza la tinción de gram y se deposita la placa en la jarra con vela, una vez apagada la vela se guarda en la estufa a 37°C por 48 horas

- ❖ **Interpretación de resultados**

Tecnólogo medico

Desde este proceso en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico. La observación de la tinción de gram de diplococos gram negativos es indicativo de *N. gonorrhoeae*. La observación de este hallazgo se debe correlacionar con el cultivo.


- ❖ **Informe de resultados**

Los resultados negativos se informan en el SIL a las 48 horas y los positivos desde las 72 horas.

- **CULTIVO PARA LEVADURAS**

Este cultivo se encuentra dentro de otros exámenes como flujo vaginal, secreción vaginal y secreción ótica. De forma aislada no se solicita de forma habitual.

- ❖ **Materiales**

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Placas de agar cromocandida
- Portaobjeto

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

Es responsabilidad del técnico paramédico el proceso de siembra y tinción de gram. Para la siembra se pasa la Tórula con la muestra por todo el agar cubriendo toda la placa, luego se realiza la tinción de gram y se incuba la placa hasta las 48 horas.

❖ Interpretación de resultados

Tecnólogo medico

Desde este proceso en adelante es responsabilidad del tecnólogo médico. La observación de la tinción de gram de levaduras y el desarrollo en el medio son indicativos de levaduras en la muestra.

Los colores de desarrollo de las colonias nos indican las probables especies de candida:

Color verde: *Candida albicans*

Color azul: *candida tropicalis*

Color rosa: *Candida krusei*


❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL a las 48 horas para negativos y dependiendo del desarrollo bacteriano los positivos.

• CULTIVO PARA NEISSERIA MENINGITIDIS

Este procedimiento se encuentra descrito dentro de líquidos estériles LCR y está dirigido para este microorganismo en sospecha de meningitis bacteriana.

❖ Materiales

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- PACH
- TM
- Portaobjeto

❖ Procedimiento

- El proceso completo lo realiza el tecnólogo médico. La muestra es centrifugada a 1000rpm por 5 minutos y sembrada en PAS y TM.
- Estriar la placa de PACH en pentágono y la de TM en césped,
- Depositar una gotita de la muestra en el portaobjeto rotulado con el número de ingreso.
- Incubar las placas en jarro con vela de 24 a 72 horas a 37°C observando a diario el desarrollo bacteriano.

❖ Interpretación de resultados

El desarrollo bacteriano en cualquiera de las placas es sospechoso de meningitis bacteriana, por lo que se debe correlacionar con el Citoquímico y realizar pruebas de identificación y sensibilidad según corresponda.

❖ Informe de resultados


Los resultados se informan en el SIL como negativo a las 72 horas y positivo dependiendo del día en que se desarrolló el microorganismo, desde las 72 horas en adelante.

ANTIBIOGRAMAS

ANTIBIOGRAMA POR DILUCION CIM; IDENTIFICACIÓN Y SUCEPTIBILIDAD POR EQUIPO VITEK 2

VITEK 2 es un sistema que utiliza tarjetas con reactivos colorimétricos, las que son inoculadas con la suspensión de un cultivo puro microbiano y el perfil de desarrollo es interpretado de forma automática.

Las tarjetas reactivas tienen 64 pocillos que contienen, cada uno, un sustrato de prueba individual. Con estos sustratos se miden varias actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras. Las tarjetas están selladas en ambos lados por una película clara que evita el contacto entre las diferentes mezclas sustrato-microorganismo y a la vez permite la transmisión del nivel de oxígeno apropiada. Cada tarjeta tiene un tubito de transferencia pre-insertado para la inoculación. Estas tarjetas tienen códigos de barras que contienen información sobre el tipo de producto, número de lote, fecha de caducidad y un identificador único que puede ser ligado a la muestra ya sea antes o después de cargar la tarjeta al sistema.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Existen 5 tipos de tarjetas reactivas disponibles para la identificación y sensibilidad de diferentes clases de organismos:

1. GN – Bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores.
2. GP - Cocos y bacilos no formadores de esporas Gram positivos.
3. AST-250- Sensibilidad de bacilos gram negativos en orina
4. AST-249- Sensibilidad de bacilos gram negativos en secreciones y/o pacientes hospitalizados.
5. AST-618- Sensibilidad de cocáceas gram positivas

❖ **Materiales:**

- Densímetro DensiChek
- Tubos de ensayo de poliestireno
- Solución salina estéril
- Cassette
- Tarjetas
- Gradillas
- Pipetas 145 ul
- Pipeta de 280 ul

❖ **Procedimiento**

Tecnólogo médico


Todo el procedimiento de identificación y sensibilidad es responsabilidad del tecnólogo médico y los pasos del procedimiento son los siguientes:

a) **Preparación de la suspensión**

Transferir con asa estéril, a partir de un cultivo puro una cantidad suficiente de inóculo a un tubo de ensayo de poliestireno claro de 12x75 mm que contiene 3 mL de solución salina estéril (Sol. Acuosa de NaCl 0.45% a 0.5%, pH 4.5 a 7.0).

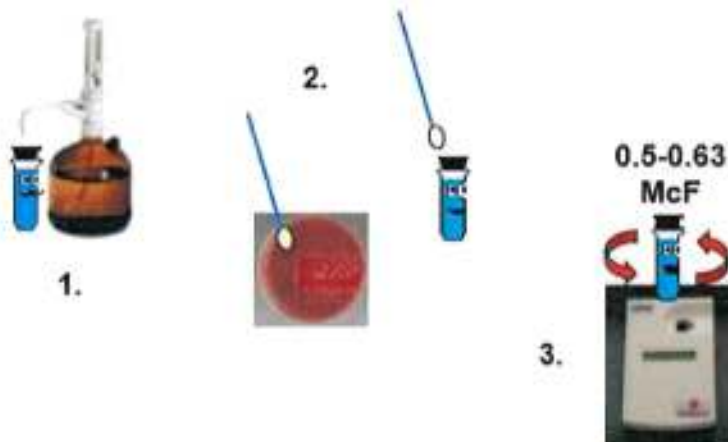
Ajustar la turbiedad a 0.50-0.63 unidades de la escala de McFarland con el densitómetro DensiCheK. (Figura N°1)

Figura N°1

 Hospital Santa Cruz Colchagua	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018
		Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Procedimiento para preparación del ki

Identificación/Susceptibilidad



Para realizar sensibilidad antimicrobiana tomar del tubo con la turbidez ajustada 280 μ l y colocar en tubo con 3ml de solución salina en caso de cocáceas gram positivas. (Figura N°2)

Figura N°2



Para sensibilidad antimicrobiana de bacilos gram negativos tomar del tubo con la turbidez ajustada 145 μ l y colocar en tubo de 3ml de solución salina. (Figura N°3)


	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
Manual de Procedimientos de Microbiología clínica		Fecha Aprobación: Octubre de 2018
		Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Figura N°3



Colocar el tubo de ensayo que contiene la suspensión bacteriana dentro de la gradilla especial (cassette), y la tarjeta de identificación se coloca en la ranura cercana, insertando el tubo de transferencia dentro del tubo con la suspensión correspondiente.


Colocar el cassette con las muestras en el sistema VITEK 2.

Una vez dentro del equipo, las muestras se someten a los siguientes procesos de forma automática:

b) Inoculación

Las muestras son transportadas a una cámara en la que se aplica vacío y en seguida se reintroduce nuevamente el aire, ésta acción hace que la suspensión bacteriana pase a través del tubo de transferencia hacia los microcanales que llenan todos los pozos.

c) Sellado e incubación de las tarjetas

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Las tarjetas inoculadas pasan por un mecanismo que corta los tubos de transferencia y las sella, previo a la carga dentro del carrusel-incubador. Todos los tipos de tarjetas se incuban en línea a $35.5 \pm 1.0^\circ \text{C}$.

❖ Interpretación de resultados

Cada tarjeta es removida del carrusel-incubador cada 15 min, transportada al sistema óptico de transmitancia el que usa diferentes longitudes de onda del espectro visible para interpretar las reacciones de turbiedad o el color de los productos metabólicos, y devuelta a su sitio en el carrusel hasta el siguiente tiempo de lectura. Los datos son registrados a intervalos de 15 min durante el periodo de incubación total. Los cálculos se realizan con los datos "crudos" y se comparan en los umbrales para determinar las reacciones para cada prueba. Los resultados aparecen como "+", "-", o cuando las reacciones son débiles estas se indican como "?".

● Base de datos

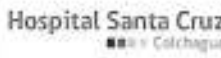
Las bases de datos de los productos de identificación están contruidos con un gran número de cepas de microorganismos perfectamente caracterizados y probados bajo varias condiciones de cultivo. Estas cepas provienen de una variedad de fuentes clínicas e industriales, así como de colecciones de cultivo públicas (Ejem.: ATCC) y cepas controles.

● Disposición de desechos

Después del proceso las tarjetas se colocan en el contenedor rojo ubicado en el equipo y son eliminados en contenedor amarillo según normas REAS.

● Estudio de resistencia antimicrobiana

El método utilizado para el estudio de resistencia antimicrobiana es automatizado a través del equipo Viteck 2, este utiliza tarjetas de plástico transparente para la prueba de sensibilidad. Se trata de tarjetas de 30 pozos que llenan con el inóculo bacteriano estandarizado, mediante una bomba de vacío y luego las tarjetas son selladas herméticamente, se introducen a un incubador a 35°C y cada 10 minutos el sistema hace una lectura y se mide la concentración del inóculo bacteriano. Cada tarjeta tiene un pozo control positivo de crecimiento y es este pozo donde se construye una curva normal de crecimiento bacteriano.

 Hospital Santa Cruz Colchagua	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Cada uno de los pozos de antibióticos es referido al control positivo de crecimiento y la curva obtenida en cada uno a su vez, se controla la curva normal obtenida en el pozo de control positivo.

Así pues, una cepa resistente, tendría una curva exacta o muy parecida a la normal, una cepa intermedia presentaría una curva mucho menos amplia y con un menor recuento bacteriano que el control; una cepa sensible, no tendría una curva, tendría una línea recta.

❖ Informe de resultados

Los resultados son informados de acuerdo a la identificación bacteriana y la procedencia del paciente. Los antibiogramas informados son los siguientes:


a. Urocultivos de pacientes provenientes de los servicios de urgencias y ambulatorios

Para los aislamientos con sensibilidad de la mayoría de las familias de antibióticos se informa:

AISLAMIENTOS: Enterobacterias (GN)	
TARJETA: AST-250	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Ampicilina	AM
Cefalotina	CF
Cefotaxima	CTX
Cefuroxima	CXM
Ciprofloxacino	CIP
Gentamicina	GM
Ácido nalidixico	NA
Nitrofurantoina	FT
Sulfametoxazol/trimetropin	SXT


Si el aislamiento presenta resistencia por ejemplo BLEE+ se deben informar los siguientes antibióticos:

AISLAMIENTOS: Enterobacterias (GN)
TARJETA: AST-250

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amiacina	AN
Ampicilina	AM
Cefalotina	CF
Cefepime	FEP
Cefotaxima	CTX
Ceftazidima	CAZ
Cefuroxima	CXM
Ciprofloxacino	CIP
Ertapenem	ETP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Ácido nalidixico	NA
Nitrofurantoina	FT
Piperaciclina/Tozobactam	TZP
Sulfametoxazol/trimetropin	SXT

AISLAMIENTOS: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (GN)	
TARJETA: AST-250	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Ceftazidima	CAZ
Ciprofloxacino	CIP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Ácido nalidixico	NA
Piperaciclina/Tozobactam	TZP
AISLAMIENTOS: <i>Staphyococcus</i> (GP)	


	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

TARJETA: AST-618	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Gentamicina	GM
Nitrofurantoina	FT
Cefoxitina	FOX
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Sulfametoxazol/trimetropin	SXT
Vancomicina	VA

AISLAMIENTOS: Enterococcus (GP)	
TARJETA: AST-618	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Nitrofurantoina	FT
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Vancomicina	VA

b. Urocultivos en pacientes Hospitalizados

AISLAMIENTOS: Enterobacterias (GN)


 Hospital Santa Cruz Colchagua	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

TARJETA: AST-249	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Ampicilina/Sulbactam	SAM
Cefazolina	CZ
Cefepime	FEP
Cefotaxima	CTX
Cefatzidima	CAZ
Cefuroxima	CXM
Ciprofloxacino	CIP
Ertapenem	ETP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Piperaciclina/Tozobactam	TZP

TARJETA: AST-249	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Cefepime	FEP
Cefatzidima	CAZ
Ciprofloxacino	CIP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Piperaciclina/Tozobactam	TZP

TARJETA: AST-618	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Gentamicina	GM
Nitrofurantoina	FT
Cefoxitina	FOX
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Sulfametoxazol/trimetropin	SXT
Vancomicina	VA

TARJETA: AST-618	
AISLAMIENTOS: Enterococcus (GP)	


 Hospital Santa Cruz Cochabamba	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Nitrofurantoina	FT
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Vancomicina	VA

c. Cultivos de herida, líquidos estériles en pacientes hospitalizados y ambulatorios

AISLAMIENTOS: Enterobacterias (GN)	
TARJETA: AST-249	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Ampicilina/Sulbactam	SAM
Cefazolina	CZ
Cefepime	FEP
Cefotaxima	CTX
Cefatzidima	CAZ
Cefuroxima	CXM
Ciprofloxacino	CIP
Ertapenem	ETP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Piperaciclina/Tozobactam	TZP


AISLAMIENTOS: *Pseudomonas aeruginosa* (GN)

 <p>Hospital Santa Cruz Cochabamba</p>	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

TARJETA: AST-249	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Amikacina	AN
Cefepime	FEP
Cefatzidima	CAZ
Ciprofloxacino	CIP
Gentamicina	GM
Imipinem	IPM
Meropenem	MEM
Piperaciclina/Tozobactam	TZP

AISLAMIENTOS: Staphyococcus (GP)	
TARJETA: AST-618	
ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Gentamicina	GM
Nitrofurantoina	FT
Cefoxitina	FOX
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Sulfametoxazol/trimetropin	SXT
Vancomicina	VA

AISLAMIENTOS: Enterococcus (GP)	
TARJETA: AST-618	

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

ANTIMICROBIANO	CÓDIGO
Cloranfenicol	C
Ciprofloxacino	CIP
Clindamicina	CM
Eritromicina	E
Nitrofurantoina	FT
Oxacilina	OX
Rifampicina	RA
Tetraciclina	TE
Vancomicina	VA

Los resultados son informados en el SIL, no se pueden estandarizar los tiempos de respuestas de la sensibilidad e identificación bacteriana debido a que esto dependerá de diversos factores tales como la identificación del microorganismo, el tipo de muestra, el aislamiento entre otras. El tiempo de respuesta para este examen es desde **72 horas**.

EXÁMENES SEROLÓGICOS Y OTROS

- **REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN PARA MONONUCLEOSIS INFECCIOSA**

- ❖ **Materiales**


- Casette de reacción
- 1buffer
- 1 control positivo
- 1 control negativo
- Pipeta desechable

- ❖ **Procedimiento**

Tecnólogo médico:

El procedimiento es realizado desde el principio por el tecnólogo médico.

- La muestra y reactivos deben estar a temperatura ambiente para su uso.
- Deposite el cassette sobre una superficie limpia y plana.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Para muestras de suero o plasma mantenga la pipeta en posición vertical y transfiera una gota de suero o plasma y una gota de bufer en el pocillo del test (s).
- Leer los resultados a los 5 minutos (no más de 10).

❖ Interpretación de resultados

Positivo: Aparece una línea roja en el área control (c) y otra en el área test.

Negativo: Solo aparece una línea en el área control del test

Inválido: No aparece la línea control. Se debe repetir la prueba.

❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL, el tiempo de respuesta es de 1 hora para urgencia, 4 horas para hospitalizados y 24 horas hábiles para ambulatorios.

EXÁMENES PARA LABORATORIO DE SÍFILIS

• RPR (Reagina plasmática rápida)

❖ Materiales:

*Kit RPR incluye:

- Frasco dispensador c/aguja
- Antígeno (forma modificada del antígeno VDRL)
- Láminas con círculos demarcados en donde se realiza la reacción.
- Varillas de plástico para mezclar.
- Controles (+) y (-).


Equipos

- Rotador orbital (adaptable a 100 rpm +/- 2)

❖ Procedimiento:

Técnica realizada por el tecnólogo médico.

- Muestra a usar es suero o plasma, previamente incubado o sin incubar.
- La muestra debe estar libre de hemolisis o contaminación.
- Se debe dispensar una gota (50 µL) de muestra sobre uno de los círculos de la lámina.
- Mediante el uso de la varilla repartir la gota por toda la superficie del círculo
- Coloque la aguja en el frasco dispensador y succione suficiente antígeno (previamente agitado)
- Sin sacar la aguja dispensar una gota de antígeno sobre cada muestra.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Lo mismo se realiza con los controles (+) y (-).
- Rotar la lámina manualmente o mediante rotador mecánico por 8 minutos a 100 rpm.

LECTURA

- La lectura se realiza macroscópicamente bajo una buena fuente de luz
- Como el antígeno contiene micropartículas de carbón facilita la lectura macroscópica.

❖ Interpretación de resultados

- Las muestra reactivas presentan aglutinación característica que varían de suave (reactivo débil) a intenso (reactivo)
- Las muestras negativas no presentan esta reacción , manifiestan un aspecto macroscópico suave y parejo.



A considerar:


- Los reactivos deben llevarse a temperatura ambiente previo a su uso.
- Se recomienda no almacenar reactivo en el frasco dispensador, debe devolverse al frasco de vidrio.

• VDRL

Este procedimiento corresponde a una reacción antígeno – anticuerpo de floculación en lámina, estandarizada para realizarse con suero calentado y en líquido cefalorraquídeo LCR sin calentar.

Materiales

- Rotador (adaptable a 180 +/- 2 rpm)
- Baño termostático que alcance temperatura de 56°C.
- Láminas de vidrio (con 12 anillos , de parafina o cerámica de 14 mm de diámetro)
- Soporte de madera (para sostener las láminas de vidrio).
- Agujas hipodérmicas (también se aceptan las micropuntas).
- Frasco Erlenmeyer (con tapón de vidrio esmerilado).
- Pipetas graduadas de 1 ml y 5 ml.
- Pipetas automáticas con punta desechable, que rinda 50 µL.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Microscopio (equipado con ocular de 10 x y un objetivo 10 x).
- Recipientes y desinfectantes para descontaminar.

Antígeno V.D.R.L.

- Solución salina amortiguada V.D.R.L.
- Solución salina al 0.9 %
- Solución salina al 10 %
- Sueros controles (reactivo, reactivo débil y no reactivo).


Procedimiento

Preparación del antígeno

- En el momento de preparar la suspensión de antígeno, la temperatura del laboratorio, pipetas, frasco, solución salina amortiguada y del antígeno V.D.R.L., debe estar entre 23 y 29 °C, siendo la óptima 25°C.
- Depositar 0,4 ml de solución amortiguada V.D.R.L. con pipeta de 1 ml, en el fondo de un frasco pyrex de fondo plano, para que los 0,4 ml de la solución se distribuya uniformemente (si el frasco está engrasado, se descarta).
- Añadir 0,5 ml de antígeno (desde la mitad inferior de una pipeta de 1 ml graduada hasta la punta), directamente sobre la solución salina amortiguada, mientras se hace girar el frasco suave y continuamente sobre una superficie plana. El antígeno se añade gota a gota, pero rápidamente en 6 segundos. La punta de la pipeta debe quedar en el tercio superior del frasco y la rotación no debe ser tan vigorosa para evitar que salpique la pipeta con la solución salina amortiguada. La velocidad de rotación adecuada se obtiene cuando el centro del frasco describe un círculo de 2 pulgadas de diámetro, aproximadamente 3 veces por segundo (18 veces en 6 segundos).
- Proseguir la rotación del frasco por 10 segundos.
- Añadir 4,1 ml de solución amortiguada de V.D.R.L. con pipeta de 5 ml dejándola escurrir libremente.
- Tapar el frasco y agitar de abajo hacia arriba y viceversa aproximadamente 30 veces en 10 segundos.
- Mezclar suavemente la suspensión de antígeno cada vez que se use.
- Es necesario considerar que dicha suspensión permanece estable por 12 horas, el volumen de 5 ml alcanza para 180 reacciones.
- Mantener la suspensión de antígeno entre 23°C y 29°C.
- Controlar la suspensión de antígeno cada vez que se prepare con los sueros controles de reactividad conocida (Reactivo; Reactivo débil y No Reactivo).

PREPARACIÓN DE CONTROLES.

- Los controles se refrigeran entre 2 y 8 °C.
- Al reconstituirlos con 3 ml de agua destilada, luego se debe alicuotar en volúmenes de 180 µL de cada uno de los controles.
- Luego de rotularlos se deben congelar.
- Cada vez que se procesen muestras debe descongelarse para controlar la suspensión de antígeno.

 Hospital Santa Cruz Calle Colchagua 1000	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

- Centrifugar las muestras de sangre a temperatura ambiente, a una velocidad de 2.500 rpm durante 5 minutos.
- Transferir los sueros a tubos limpios, secos y descartar las muestras hemolizadas, contaminados, quillosos o demasiado turbios.
- Calentar los sueros a 56 °C en baño termostático durante 30 minutos.
- Luego sacar los sueros del baño y examinarlos por si tienen glóbulos rojos o restos visibles de partículas.
- Los sueros deben estar a temperatura ambiente de 23 – 29 °C durante 10 minutos antes del proceso de análisis.
- Si los sueros se analizan después de 4 horas posteriores al primer calentamiento, se deben volver a calentar a 56°C por 10 minutos.
- Los sueros se guardan en refrigerador (2° - 8 °C). Si el análisis se realizará después de 5 días de la toma de muestra, se congelan a – 20 °C /evitar congelar y descongelar las muestras en forma repetida).

TÉCNICA V.D.R.L CUALITATIVO


- El proceso es realizado por tecnólogo médico
- Depositar 50 µL de suero calentado dentro de un anillo de la lámina de vidrio (previamente rotulada). utilizando una pipeta automática.
- Extenderlo por todo el diámetro del anillo.
- Agitar suavemente la suspensión de antígeno y añadir una gota a cada suero con jeringa unida a aguja calibre 18.
- Eventualmente se puede usar cualquier dispositivo que rinda el volumen exacto requerido de antígeno (17 µL) .
- Agitar las láminas en rotador orbital a 180 rpm por 4 minutos
- Inmediatamente después de la agitación , el tecnólogo médico procederá a leer las reacciones al microscopio con aumento 100 x (10x ocular y 10x objetivo)

INTERPRETACIÓN DE LA LECTURA

- Grumos medianos y grandes = Reactivo (R)
- Grumos pequeños = Reactivo débil (Rd)
- Sin grumos o con ligera rugosidad = No Reactivo (NR)

TECNICA V.D.R.L. CUANTITATIVO.

- Se deben analizar cuantitativamente todos los sueros que den resultado Reactivo, Reactivo débil o No Reactivo rugoso en la reacción cualitativa de V.D.R.L.
- Pasar a otra gradilla todos los tubos con suero a analizar cuantitativamente.
Las diluciones de suero que se analizan son: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1 :256 o más, hasta obtener un resultado No reactivo.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- En lámina de vidrio depositar desde el pocillo 2 en adelante 50 µL de solución salina al 0,9 % (se puede realizar hasta el 4 o hasta el 8, dependiendo cuan reactiva sea la muestra).
- En pocillo 1 se deposita 50 µL de muestra y se extiende en todo el diámetro.
- En pocillo 2 se deposita 50 µL de suero, mezclando con la solución salina (ocho veces) y extender (evitar formación de burbujas).
- Transferir 50 µL desde el anillo 3 hasta el anillo 8, mezclar, extender y descartar los últimos 50 µL.
- Agitar suavemente la suspensión de antígeno y añadir una gota (17 µL) a cada anillo
- Agitar las láminas durante 4 minutos a 180 rpm
- Leer las reacciones al microscopio con aumento 100x (10x ocular y 10x objetivo), inmediatamente después de la agitación.
- Informar los resultados, en término de la mayor dilución de suero que se observa reactiva, por lo tanto el resultado previo al reactivo débil.

CUADRO DE INFORME DE RESULTADOS.


S/ diluir (1:1)	Diluciones del suero					Informe
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	Rd	-	-	-	-	Reactivo sin diluir
R	R	Rd	-	-	-	R. en dilución al 1:2
R	R	R	Rd	-	-	R. en dilución al 1:4
Rd	R	R	R	Rd	-	R. en dilución al 1:8
NR (rugoso)	Rd	R	R	R	-	R. en dilución al 1:16
Rd	-	-	-	-	-	Reactivo débil
R	R	-	-	-	-	R. en dilución al 1:2

R=Reactivo Rd= Reactivo débil NR= No reactivo

V.D.R.L PARA MUESTRAS DE LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO (LCR)

PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN DE ANTÍGENO

- Preparar la suspensión de antígeno como se describe para la técnica V.D.R.L. en suero
- Añadir a un tubo de ensayo, 1 parte de solución salina al 10% y 1 parte de suspensión de antígeno para V.D.R.L. en suero.
- Mezclar por inversión y dejar reposar por 5 minutos (esta suspensión se puede usar sólo hasta 2 horas después de preparada).
- Mantener la suspensión de antígeno para LCR a temperatura ambiente 23° - 29°C.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- Se realiza prueba preliminar de la suspensión de antígeno para LCR; a partir del suero control Reactivo preparar las diluciones con la solución salina al 0,9% , según indicaciones del fabricante. Los sueros controles se analizan sin calentamiento previo.

REACCIÓN CUALITATIVA DE V.D.R.L EN LCR


- Depositar 50 µL de LCR en una concavidad o anillo de la lámina de aglutinación con una pipeta automática
- Agitar suavemente la suspensión de antígeno y agregar una gota (10 µL) a cada suero control diluido y a cada anillo con LCR.
- Agitar las láminas durante 8 minutos en el rotador orbital a 180 rpm.
- Inmediatamente después de la agitación leer las reacciones al microscopio con aumento 100x (10x ocular y 10x objetivo)

LECTURA RESULTADO

- Grumos definidos de cualquier tamaño = Reactivo (R)
- Sin grumos o rugosidad muy leve = No Reactivo (NR)
- La reacción Reactiva mínima o débil se informa = Reactiva

REACCIÓN CUANTITATIVA DE V.D.R.L. EN LCR.

- Depositar 50 µL de solución salina al 0.9% del 2 al 4 en la lámina
- Depositar 50 µL de LCR sin calentar en el anillo 1. Extender
- Depositar 50 µL de LCR en el anillo 2, mezclando con la solución salina 8 veces. Evitar la formación de burbujas
- Transferir 50 µL desde el anillo 2 al anillo 3 , mezclar y extender
- Transferir 50 µL desde el anillo 3 al 4, mezclar extender y descartar los últimos 50 µL.
- En LCR fuertemente reactivos puede ser necesario hacer diluciones seriadas adicionales
- Agitar suavemente la suspensión de antígeno y añadir 1 gota a cada anillo (10 µL)
- Agitar las láminas durante 8 minutos en rotador orbital a 180 rpm
- Inmediatamente después de la agitación leer las reacciones al microscopio con aumento 100x (10 x ocular y 10 x objetivo)
- Informar los resultados en términos en término de la mayor dilución de LCR que se observe reactiva.

 Hospital Santa Cruz Colchagua Arg. 1	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

EJEMPLOS

S/diluir (1:1)	Diluciones del líquido cefalorraquídeo					Informe
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	
R	-	-	-	-	-	R. sin diluir
R	R	-	-	-	-	R. en diluc. al 1:2
R	R	R	-	-	-	R. en diluc. al 1:4
R	R	R	R	-	-	R. en diluc. al 1:8
R	R	R	R	R	-	R. en diluc. al 1:16

R=Reactivo

- **MHA-Tp**

MATERIALES:

- Tubos de vidrio khan.
- Placas de microtitulación con fondo en U.
- Soporte con espejo de aumento para lectura de fondo de los pocillos.

REACTIVOS:

- Kit de MHA-Tp

EQUIPOS:


- Centrifuga
- Micropipetas
- Refrigerador
- Freezer -30°C

Preparación de la muestra de suero:

- Verificar que la muestra tenga un volumen adecuado, estén libres de hemolisis, lipemia y /o contaminación.
- La muestra de sangre se centrifuga a 2.500 rpm por 5 minutos para separar el suero.
- Si las muestras no se procesan dentro de las 4 horas, se conservan entre 2 y 8 °C por un máximo de 48 horas.
- Si las muestras no se procesan dentro de las 48 horas, se conservan a -20 °C hasta 2 años.

Ejecución de la técnica:

- La técnica es realizada por tecnólogo médico.
- Disponer y utilizar todos los elementos de protección personal correspondiente.
- Dejar que los reactivos alcancen la temperatura durante 15 a 30 minutos

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018
		Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

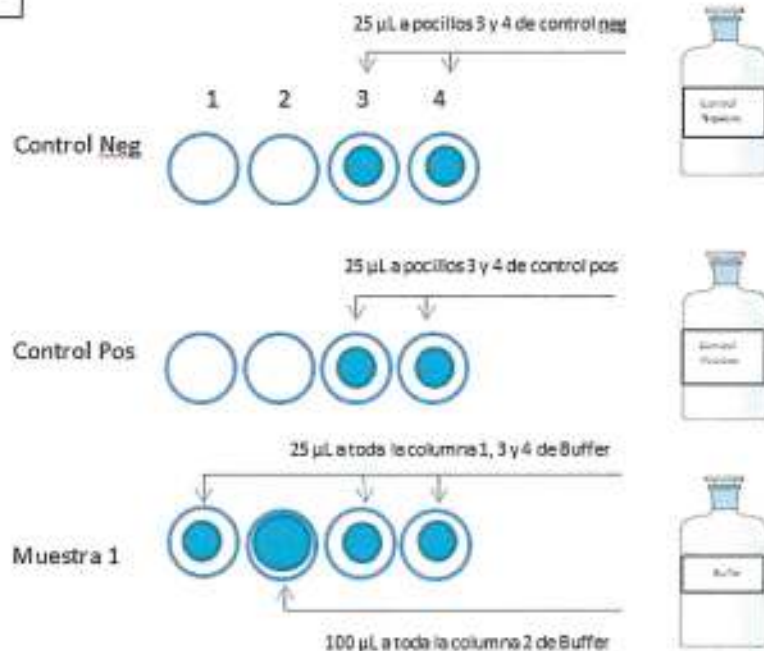
- Verificar que los reactivos estén bien suspendidos.
- Distribuir 25 µL de diluyente en el pocillo 1, 100 en el pocillo 2 y 25 en pocillo 3 y 4
- Añadir 25 µL de la muestra en el pocillo 1. Mezclar el contenido del pocillo 1 y transferir 25 µL al pocillo 2. Mezclar y transferir 25 µL al pocillo 3. Transferir otros 25 µL del pocillo 2 al pocillo 4, mezclar y desechar 25 µL del pocillo 4.
- Añadir 75 µL de **reactivo control** al pocillo 3 y 75 µL de **reactivo antígeno** al pocillo 4.
- Mezclar el contenido de los pocillos dando ligeros golpes en los lados de la placa.
- Cubrir la placa e incubar durante 45 – 60 minutos a temperatura ambiente y en lugar libre de vibraciones. Mantener alejado de cualquier fuente de calor.
- Leer los resultados en el soporte con espejo de aumento.


Utilización de los controles

- Incluir los controles positivo y negativo en cada serie de muestras teniendo en cuenta que los controles ya están prediluidos 1:20
- Añadir 25 µL de cada control directamente en los pocillos 3 y 4.
- No añadir solución diluyente.

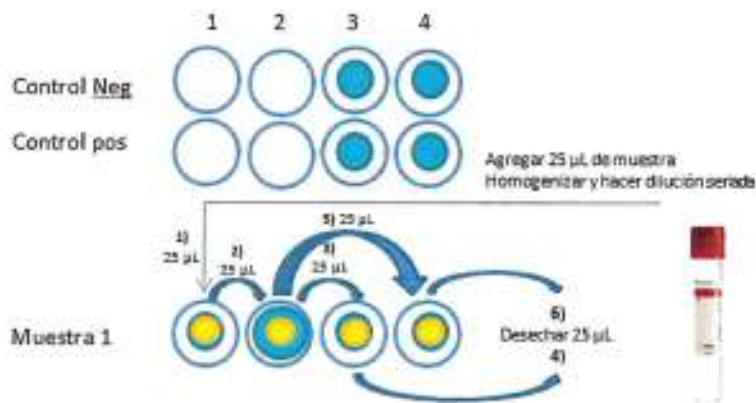
Metodología MHA-Tp

Paso 1

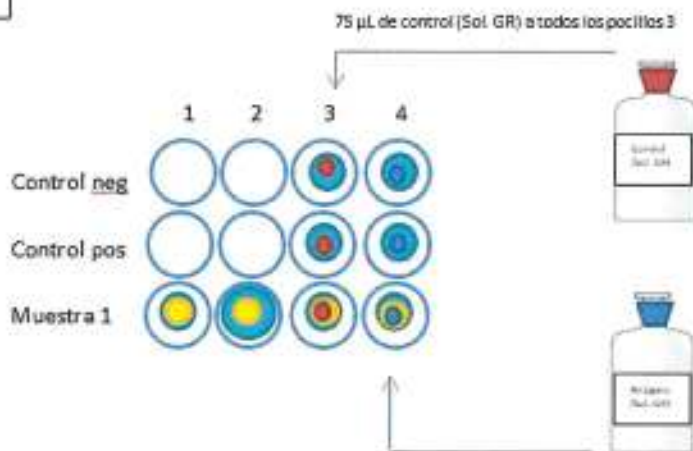


	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018
		Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023


Paso 2



Paso 3



Homogenizar y esperar entre 45 a 60 m 75 µL de antígeno (Sol. GR) a todos los pocillos 4

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

TEST RÁPIDOS

Para los test rápidos que se encuentran en este manual se describen los procedimientos de la marca utilizada en ese momento que varía en cada compra de insumos por lo que para las especificaciones técnicas se debe guiar por el inserto de cada distribuidor de la técnica al momento del proceso.

CAMPYLOBACTER

El siguiente procedimiento corresponde a la detección rápida de antígeno de Campylobacter en muestras fecales utilizando Inmunocard Stat CAMPY que detecta Campylobacter jejuni y Campylobacter coli.

Las muestras corresponden a material fecal fresca o conservada en medio de transporte Cary Blair.

Materiales

- Dispositivo de prueba Inmuno card Stat CAMPY
- Diluyente de muestra
- Pipetas de transferencia
- Tubos de ensayo
- Palillos de madera

❖ **Procedimiento**

Tecnólogo médico:

Todo el procedimiento está a cargo del tecnólogo médico.

Permita que la muestra alcance temperatura ambiente.


Mezcle bien el diluyente de muestra. Usando el gotero que viene con el diluyente de muestra, añada 1400 ul de diluyente de muestra al tubo de ensayo.

Muestras fecales sólidas

Añada una cantidad pequeña (3 a 4 mm de diámetro) de muestra de material fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo con diluyente de muestra.

Emulsifique la materia fecal usando un palillo aplicador de madera.

Mezcle en un agitador vortex durante 15 segundos.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Muestras fecales líquidas

Usando una pipeta de transferencia provista en el kit, añade 50ul (hasta la primera marca desde de la punta de la pipeta) de material fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo con el diluyente de muestra.

Mezcle en el vortex por 15 segundos.

Deje la pipeta de transferencia dentro del tubo que contiene la muestra para poder usarla más tarde.

Muestra de material fecal humana conservada en medio cary Blair

Usando el gotero que bien con el diluyente de muestra añade 350 ul al tubo de ensayo.

Usando una pipeta de transferencia provista en el kit, añade 50ul (hasta la primera marca desde de la punta de la pipeta) de material fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo con el diluyente de muestra.

Mezcle en el vortex por 15 segundos.

Deje la pipeta de transferencia dentro del tubo que contiene la muestra para poder usarla más tarde.

Retire cada dispositivo de la bolsa metálica

Usando la pipeta de transferencia provista en el kit añade 175 ul de muestra diluida (hasta la segunda marca de la pipeta) al puerto de muestra del dispositivo.


Incuba la prueba por 20 minutos y lea los resultados.

❖ Interpretación de resultados

Los resultados positivos a parecen con dos bandas de color ROSADO-ROJO en las posiciones de la línea control y línea del test.

Los resultados negativos aparecen con una banda de color ROSADO-ROJO en la posición en la línea de control. Además pueden existir resultados inválidos como se muestra en la figura:



	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- **ROTAVIRUS-ADENOVIRUS**

El siguiente procedimiento corresponde a la detección rápida de antígeno de rotavirus y adenovirus en heces utilizando el kit Abon Combo test.

La muestra corresponde a deposición. En caso de que se disponga de otro reactivo debe referirse al inserto técnico del mismo.

- ❖ **Procedimiento**

Materiales

- Casette de reacción
- Tubos colectores de espécimen con buffer de extracción
- Pipeta desechable cuentagotas

Tecnólogo médico:

Todo el procedimiento está a cargo del tecnólogo médico.

Para muestras sólidas:

Desenrosque la tapa del tubo colector de la muestra, luego al azar inserte el aplicador por al menos 3 sitios diferentes para colocar aproximadamente 50mg de deposición (equivalente ¼ guisante).

Para muestras líquidas:

Sostenga el gotero verticalmente, aspire la muestra fecal, y luego transfiera aproximadamente 80ul dentro del tubo colector de la muestra que contiene el buffer de extracción.

Apriete la tapa en el tubo de recogida de muestras, luego agite vigorosamente el tubo de recogida de muestras para mezclar la muestra y el tapón de extracción. Deje el tubo solo por dos minutos.


Antes de abrir el sobre con el casette asegúrese que alcance temperatura ambiente. Remueva la placa del sobre laminado y úselo tan pronto como sea posible.

Sostenga el tubo colector hacia arriba y rompa la punta del tubo colector de la muestra. Invierta el tubo colector de la muestra y transfiera 2 gotas completas de la muestra extraída al pocillo de la muestra, luego empiece a cronometrar.

Lea los resultados a los 10 minutos después de haber dispensado las gotas de la muestra.

- ❖ **Interpretación de resultados**

Los resultados negativos aparecen con una línea azul en la línea del control.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Los resultados aparecen con dos líneas azules, una en la línea del control y otra en la línea del análisis. Además pueden aparecer resultados inválidos como se muestra en la imagen en la cual no aparece la línea control

❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL como positivo o negativo según corresponda y los tiempos de respuesta corresponden a 1 hora para servicios de urgencia, 2 horas para hospitalizados y 24 horas para pacientes hospitalizados.

• STREPTOCOCCUS GRUPO A

El siguiente procedimiento corresponde a la detección rápida de Streptococcus grupo A utilizando el kit BioNexia Strep A plus.

La muestra corresponde a Tórula faríngea. En caso de que se disponga de otro reactivo debe referirse al inserto técnico del mismo.

Materiales


- Reactivo R1
- Reactivo R2
- Tubo de extracción con tapa cuenta gotas
- Casette de reacción

❖ Procedimiento

Tecnólogo médico:

Todo el procedimiento está a cargo del tecnólogo médico.

1. Agregue 4 gotas del reactivo R1 al tubo de extracción
2. Agregue 4 gotas del reactivo R2 al tubo de extracción
3. Introducir la Tórula en el tubo y rotar por 10 veces.
4. Incubar por 1 minuto a temperatura ambiente.
5. Extraer todo el líquido de la cabeza de la Tórula apretando con firmeza el tubo entre el índice y el pulgar.
6. Cierre el tubo de extracción con tapa cuenta gotas.
7. Abrir el casette de reacción
8. Añada 3 gotas completas de la solución del tubo de extracción.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

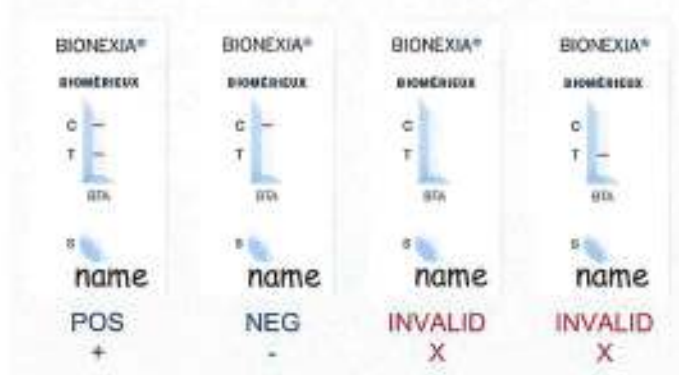
9. Lea el resultado a los 5 minutos.

❖ **Interpretación de resultados**

Los resultados negativos aparecen con una línea roja en la línea del control.

Los resultados aparecen con dos líneas rojas, una en la línea del control y otra en la línea del análisis.

Además pueden aparecer resultados inválidos como se muestra en la imagen;




❖ **Informe de resultados**

Los resultados se informan en el SIL como positivo o negativo según corresponda y los tiempos de respuesta corresponden a 1 hora para servicios de urgencia, 2 horas para hospitalizados y 24 horas para pacientes hospitalizados.

• **HELICOBACTER PYLORI**

El siguiente procedimiento corresponde a la detección rápida del antígeno de Helicobacter pylori utilizando el test AAll test.

La muestra corresponde a deposición idealmente fresca, si esto no es posible la muestra debe mantenerse por 3 días a temperatura de 2-8 °C. En caso de que se disponga de otro reactivo debe referirse al inserto técnico del mismo

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- **Materiales**

- Tubos colectores con bufer de extracción
- Cassettes
- Gotero cuenta gotas

- ❖ **Procedimiento**

Tecnólogo médico:

Todo el procedimiento está a cargo del tecnólogo médico.

Para muestras sólidas:

Desenrosque la tapa del tubo colector de la muestra, luego al azar inserte el aplicador por al menos 3 sitios diferentes para colocar aproximadamente 50mg de deposición (equivalente ¼ guisante).

Para muestras líquidas:

Sostenga el gotero verticalmente, aspire la muestra fecal, y luego transfiera aproximadamente 80ul dentro del tubo colector de la muestra que contiene el buffer de extracción.

Apriete la tapa en el tubo de recogida de muestras, luego agite vigorosamente el tubo de recogida de muestras para mezclar la muestra y el tapón de extracción. Deje el tubo solo por dos minutos.

Antes de abrir el sobre con el cassette asegúrese que alcance temperatura ambiente. Remueva la placa del sobre laminado y úselo tan pronto como sea posible.

Sostenga el tubo colector hacia arriba y rompa la punta del tubo colector de la muestra. Invierta el tubo colector de la muestra y transfiera 2 gotas completas de la muestra extraída al pocillo de la muestra, luego empiece a cronometrar.


Lea los resultados a los 10 minutos después de haber dispensado las gotas de la muestra.

- ❖ **Interpretación de resultados**

Los resultados negativos aparecen con una línea coloreada en la línea del control.

Los resultados aparecen con dos líneas coloreadas, una en la línea del control y otra en la línea del análisis.

Además pueden aparecer resultados inválidos como se muestra en la imagen en la cual no aparece la línea control.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL como positivo o negativo según corresponda y los tiempos de respuesta corresponden a 1 hora para servicios de urgencia, 2 horas para hospitalizados y 24 horas para pacientes hospitalizados.

• TEST RÁPIDO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS

El siguiente procedimiento corresponde a kit de bioline.

❖ Materiales

- Cassette
- pipetas de transferencia
- Reactivo A
- Reactivo B

❖ Procedimiento

Tecnólogo médico: Todo el proceso está a cargo del tecnólogo médico


Agregar 300 ul del reactivo A a un tubo
 Introducir el hisopo de la muestra al tubo y gire 10 veces.
 Espere 2 minutos
 Agregue 600 ul del reactivo B al tubo anterior
 girar 10 veces y comprimir con los dedos
 Abrir el cassette y agregue 3 gotas en el dispositivo.
 Leer los resultados a los 15 minutos.

❖ Interpretación de resultados

Los resultados negativos aparecen con una línea coloreada en la línea del control.
 Los resultados aparecen con dos líneas coloreadas, una en la línea del control y otra en la línea del análisis.

❖ Informe de resultados

Los resultados se informan en el SIL como positivo o negativo según corresponda y los tiempos de respuesta corresponden a 1 hora para servicios de urgencia, 2 horas para hospitalizados y 24 horas para pacientes ambulatorios

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

EXÁMENES DE MICOBACTERIAS

• BACILOSCOPIAS POR TÉCNICA DE ZIELH NEELSEN

❖ Materiales

- Guantes de puño ajustado (6.5-7.0)
- Bata de seguridad de uso exclusivo para cada persona que realice BK
- Mascarilla autofiltrante N95
- Portaobjetos esmerilados nuevos
- Varillas de vidrio, metal (tinción)
- Pipeta pasteur estériles
- Gradillas
- Lápiz grafito
- Papel absorbente
- Bolsa para desechos según REAS
- Fucsina básica
- Alcohol-ácido
- Azul de metileno

❖ Procedimiento

Técnico paramédico

PREPARACIÓN DEL FROTIS


Muestras mucosas

Las muestras se trabajan bajo GBS. Elegir la porción más purulenta de la muestra y colocarla sobre un portaobjetos ya identificado.

Con otro portaobjetos presionar la muestra, extendiéndola mediante batido cuidadoso y lento, alternando éste con el calor suave del mechero, hasta obtener una película homogénea en 2/3 del portaobjetos.

Fijación de la muestra

Muestras mucosas: en estas muestras la fijación se hace simultáneamente con el extendido, alternando el calor suave del mechero con el batido entre los portaobjetos.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Tinción de ziehl neelsen:

Coloración específica: Se cubre el frotis con fucsina fenicada. Se calienta por debajo de la lámina con un hisopo impregnado de alcohol encendido hasta que se observe la emisión de vapores blancos; retirar la fuente de calor, repetir dos veces más la misma operación; cuidar que el colorante no se derrame, no se seque o hierva. Si esto ocurre, agregar más fucsina a la preparación. El tiempo de contacto con la fucsina debe ser entre 5 y 10 minutos.

Decoloración: decolorar con alcohol ácido alternando con lavados suaves de agua fría (el agua tibia desprende los extendidos). Esta operación se debe repetir las veces que sea necesario hasta que las partes menos espesas queden incoloras.

Coloración de fondo: Se cubren los extendidos con azul de metileno por 30 segundos como mínimo. Se lava con agua corriente suavemente. Se limpia con algodón impregnado en alcohol por debajo de la lámina. Se secan las preparaciones a temperatura ambiente sobre un papel absorbente y limpio.

Tecnólogo médico


Lectura:

La observación microscópica se hace con lente de inmersión. Se debe leer un mínimo de cinco zonas que sean representativas del extendido y un mínimo de 100 campos útiles.

Al cambiar la lámina se debe limpiar cuidadosamente el aceite adherido al lente de inmersión, con un papel seco y suave, especialmente si ésta ha sido positiva.

❖ Interpretación de resultados

- Ausencia de BAAR*: No se observan BAAR en 100 campos microscópicos.
- BAAR (+): Menos de 1 BAAR promedio por campo en 100 campos observados. Si el total de bacilos observados es menos de diez, dejar registro interno del número encontrado.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

- BAAR (++) : Uno a diez BAAR promedio por campo en 50 campos observados.
- BAAR (+++) : Más de diez BAAR promedio por campo en 20 campos observados.

Cuando sólo se encuentra de 1 a 3 BAAR en el total de campos observados, es necesario extender la lectura a un mayor número de campos hasta agotar las posibilidades de encontrar el cuarto bacilo. Si no es posible confirmar la positividad, se debe:

- Hacer otro extendido de la misma muestra y observar acuciosamente. Si no se encuentran más bacilos, se informa negativa y si es posible se hace cultivo.
- Solicitar una nueva muestra.

La exigencia de informar positivo con la presencia de mínimo 4 bacilos ó más, corresponde a la norma convencional de OPS, que señala que existe la posibilidad de encontrar elementos figurados (precipitados de fucsina, alimentos, partículas de ceras) que puedan inducir a falsos diagnósticos.


Las muestras de expectoración deben ser enviadas a cultivo de koch, este procedimiento se realiza por el Hospital Regional de Rancagua y se describe en el ANEXO3.

❖ Informe de resultados


Las baciloscopias deben ser informadas a las 48 horas de recepcionada la muestra para pacientes ambulatorios y en 24 para pacientes hospitalizados y 4 horas para pacientes de urgencias.

6.-TIEMPOS DE RESPUESTA EXAMÉNES DE MICROBIOLOGIA

Los tiempos descritos a continuación corresponden a los resultados negativos, los positivos no se pueden estandarizar en un tiempo exacto debido a que esto dependerá del tipo de muestra y microorganismo aislado.


 Hospital Santa Cruz Calchagua	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Prestación	Urgencias	Hospitalizados	Ambulatorios
EXÁMENES MICROSCÓPICOS			
Leucocitos fecales	1 hora	4 horas	24 horas
Tinción de <i>Campylobacter</i>	1 hora	4 horas	24 horas
Tinción gram (general)	1 hora	4 horas	24 horas
Tinta china	1 hora	4 horas	24 horas
Flujo vaginal, directo fresco	1 hora	1 hora	1 hora
Directo fresco	1 hora	1 hora	1 hora
Sedimento urinario	1 hora	4 horas	24 horas
CULTIVOS			
Coprocultivo	48 horas	48 horas	48 horas
Hemocultivo negativo	5 días	5 días	-
Hemocultivo positivo (desde el aviso de la tinción gram)	48 horas	48 horas	48 horas
Secreción de piel y heridas	48 horas	48 horas	48 horas
Secreción orotraqueal o broncoaspirada	48 horas	48 horas	48 horas
Heridas operatorias	96 horas	96 horas	96 horas
Catéter (MAKI), cultivo de	-	72 horas	-
Líquidos de cavidades estériles*	72 horas	72 horas	72 horas
Urocultivo, recuento de colonias	24 horas	24 horas	24 horas
Absceso, cultivo de	72 horas	72 horas	72 horas
Conjuntival, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas
Endoftalmitis, cultivo de	5 días	5 días	5 días
Faringea, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas
Flujo vaginal, cultivo de	48 horas	48 horas	48 horas
Nasal, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas
Otíca, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas
<i>Streptococcus agalactiae</i> (grupo B), pesquisa de	48 horas	48 horas	48 horas
Vaginal, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Uretral, cultivo de secreción	48 horas	48 horas	48 horas
CULTIVOS ESPECÍFICOS DE:			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , cultivo de	48 horas	48 horas	48 horas
<i>Neisseria meningitidis</i> , cultivo de	72 horas	72 horas	72 horas
ANTIBIOGRAMA			
Antibiograma por dilución CIM; Identificación y sensibilidad por equipo Vitek 2)	72 horas	72 horas	72 horas
EXÁMENES SEROLÓGICOS Y OTROS			
Test para mononucleosis infecciosa	1 hora	4 horas	24 horas
EXÁMENES PARA LABORATORIO DE SÍFILIS			
RPR	1 hora	4 horas	-
VDRL	-	48 horas hábiles	48 horas hábiles
MHA-Tp	-	4 horas	24 horas
EXÁMENES DE MICOBACTERIAS			
Baciloscopia	4 Horas	24 horas	48 horas hábiles
TEST RÁPIDOS			
Test rápido <i>Campylobacter</i>	1 hora	4 horas	24 horas
Test de <i>Chlamydia trachomatis</i>	1 hora	4 horas	24 horas
<i>Rotavirus/Adenovirus</i> test inmunocromatográfico	1 hora	4 horas	24 horas
<i>Streptococcus</i> grupo A, test inmunocromatográfico	1 hora	2 horas	24 horas
<i>Helicobacter pylori</i> , test inmunocromatográfico	1 hora	4 horas	24 horas

7.- INDICADOR

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023


NOMBRE DEL INDICADOR	Porcentaje de RPR que cumplen con tiempo de respuesta de 1 hora en el servicio clínico de parto del Hospital de Santa Cruz.
FÓRMULA	Número de RPR validados en 1 hora en el servicio de Parto del Hospital de Santa Cruz/ Número total de RPR validados en el servicio de Parto del Hospital de Santa Cruz X 100
UMBRAL	> 80%
PERIODICIDAD	Trimestral
FUENTE DE INFORMACION	Los datos son extraídos del sistema informático "Estadística de Infinity"
METODOLOGÍA DE MEDICIÓN	Desde el programa "estadística Infinity" ejecutar la consulta "T RESPUESTA" para el periodo a evaluar, seleccionar carpeta "abierto" y "informe local" buscar archivo: "plantilla_indicador_RPR_APL1.3" se despliega el total de RPR en parto, extraer la plantilla a Excel y contar el número de exámenes que cumplen con el tiempo de respuesta de 1 hora y aplicar la fórmula correspondiente.
CRITERIOS DE CALIDAD EVALUADOS	Los criterios evaluados corresponden al tiempo de respuesta para exámenes de urgencia de 1 hora.

8.- REVISIÓN Y CONTROL DE CAMBIOS

Versión	Fecha	Cambios


9.- REFERENCIAS

- Procedimientos técnicos de laboratorio clínico bacteriología general, instituto de salud pública de Chile 1994.
- Manual de diagnóstico de tuberculosis del ISP 2001

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Fecha Aprobación: Octubre de 2018
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

10.- DISTRIBUCIÓN

- Laboratorio
- Dpto. Calidad y Seguridad del Paciente.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

11.- ANEXOS

CONTROL DE CALIDAD INTERNO EN MICROBIOLOGÍA

INTRODUCCIÓN

Este procedimiento se aplica en el proceso analítico a todos los análisis bacteriológicos que estén sujetos a control de calidad.

Útil tanto para Tecnólogos Médicos del área de Microbiología como también de Técnicos Paramédicos que trabajen en esta área

Tiene como objetivo principal verificar el requisito de la calidad especificado, detectar y eliminar los errores para asegurar los métodos y procedimientos cualitativos del área de bacteriología, dando de esta forma resultados más exactos, precisos y rápidos.

OBJETIVO

Verificar el requisito de la calidad especificado, detectar y eliminar los errores para asegurar los métodos y procedimientos cualitativos del área de bacteriología.

DESARROLLO


El registro de los controles internos estará en la carpeta digital en el PC de microbiología llamada "REGISTRO_CCI_MICROBIOLOGÍA".

Registros: carpeta digital en el PC de microbiología llamada "REGISTRO_CCI_MICROBIOLOGÍA", a excepción de las pruebas VDRL, RPR, MHATP y temperaturas de hemocultivos.

REQUISITOS DE CALIDAD POR PRUEBA

Directo Fresco

Se controlará 1 vez al mes de Lunes a Viernes en horario hábil* con la primera muestra del día, la misma muestra se carga y se observa por duplicado. El responsable será el tecnólogo encargado del área de trabajo o en su defecto quien observe la lámina.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Directo fresco	Mensual	Doble lectura, primera muestra del día*. Se debe observar los mismos elementos en las dos láminas.	En caso de existir discrepancia en lo observado: Repita las muestras Solicitar al segundo observador.

Sedimento urinario


Se controlará 1 vez al mes de Lunes a Viernes en horario hábil* con la primera muestra del día, la misma muestra se carga y se observa por duplicado. El responsable corresponde al Tecnólogo médico que valida el examen.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Sedimento urinario	Mensual	Doble lectura, primera muestra del día*. Se debe observar los mismos elementos en las dos láminas.	En caso de existir discrepancia en lo observado: Repita las muestras. Solicitar al segundo observador.

Tinción de Gram

Se controlará por cambio de lote de reactivo con dos cepas ATCC; Staphylococcus aureus 25923 (SAU 25923) y Escherichia coli 25922 (ECO 25922). El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Tinción de Gram	Por cambio de lote	SAU 25923: Cocáceas gram(+) ECO 25922: Bacilos gram(-)	Revisar tinciones y sus vencimientos. Repetir muestras y tinciones. Realizar cambio de operador.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Tinta China

Se controlará 1 vez al mes de Lunes a Viernes en horario hábil* con la primera muestra del día, la misma muestra se carga y se observa por duplicado. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Tinta Chinar	Mensual	Doble lectura, primera muestra del día*. Se debe observar los mismos elementos en las dos láminas.	En caso de existir discrepancia en lo observado: Repita las muestras. Solicitar al segundo observador.


Tinción de campylobacter

Se controlará 1 vez al mes de Lunes a Viernes en horario hábil* con la primera muestra del día, la misma muestra se carga y se observa por duplicado. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Tinción de campylobacter	Mensual	Doble lectura, primera muestra del día*. Se debe observar los mismos elementos en las dos láminas.	En caso de existir discrepancia en lo observado: Repita las muestras. Solicitar al segundo observador.

Tinción de leucocitos fecales

Se controlará 1 vez al mes de Lunes a Viernes en horario hábil* con la primera muestra del día, la misma muestra se carga y se observa por duplicado. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Tinción de campylobacter	Mensual	Doble lectura, primera muestra del día*. Se debe observar los mismos elementos en las dos láminas.	En caso de existir discrepancia en lo observado: Repita las muestras. Solicitar al segundo observador.


Coprocultivo

Se realizará un control de esterilidad (control negativo) a las placas de Agar TCBS que son preparadas en el laboratorio. Se controlará por lote de preparación 1 placa 48 horas a 37°C. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
coprocultivo; placa de agar TCBS	Por lote	Incubación a 37°C por 48 horas; Sin desarrollo bacteriano	Si llega a crecer bacterias; Apartar las placas y repetir el proceso. Revisar lote y vencimiento del Agar. Comprobar la esterilidad de los materiales utilizados.

Cultivo para levaduras

Se realizará un control de esterilidad (control negativo) a las placas de Agar cromocandida que son preparadas en el laboratorio. Se controlará por lote de preparación 1 placa 48 horas a 37°C. El responsable será el tecnólogo médico encargado del área de microbiología.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITOS	ACCIONES CORRECTIVAS
Cultivo para levaduras	Por lote	Incubación a 37°C por 48 horas; Sin desarrollo bacteriano	Si llega a crecer bacterias; Apartar las placas y repetir el proceso. Revisar lote y vencimiento del Agar. Comprobar la esterilidad de los materiales utilizados.

Baciloscopia


Tinción de Zielh-Neelsen: requiere el uso de láminas control comercial ácido alcohol resistente positiva y negativa. Se hará semanalmente si corresponde teñir baciloscopias, si una semana no hay baciloscopias se realizará la siguiente en que lleguen.

Quien ejecutará la técnica será el Técnico Paramédico que esté trabajando en el área de Microbiología en ese momento y la observación al microscopio y las respectivas correcciones serán realizada por el Tecnólogo Médico a cargo de la sección o el que visualice la lámina.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Baciloscopia-Tinción de Zielh-Neelsen	Semanal	Control positivo: bacilos color fucsia Control negativo: bacterias color azul.	Revisar vencimientos de las láminas control. Revisar vencimiento de las tinciones. Repetir tinción.

Hemocultivo

Se controlará la temperatura del equipo automatizado Bacalert de forma diaria de Lunes a Viernes en horario hábil. El responsable corresponde al tecnólogo médico del área de microbiología. Los registro de temperatura quedan en la carpeta "registro de temperaturas hemocultivos" en la sección de microbiología.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Hemocultivo	Diaria*	Temperatura de 35 a 37°C.	Cerrar puerta del equipo y volver a medir luego de 5 minutos. Avisar al servicio técnico.

Antibiograma por CIM

El registro de calidad interno de la identificación y sensibilidad se realizará con cepas ATCC por cada lote.

Las tarjetas utilizadas para la identificación bacteriana y sensibilidad corresponden a:

GN: para identificación de bacilos gram negativos

GP: para identificación de cocáceas gram positivas

AST-N250: Sensibilidad antimicrobiana para urocultivos de pacientes ambulatorios y de urgencias.

AST-N249: Sensibilidad antimicrobiana para bacilos gram negativos de muestras de pacientes hospitalizados y muestras diferentes a Urocultivo.

AST-N618: Sensibilidad antimicrobiana para cocáceas gram positivas.


Además se controlará de forma semana de densitómetro;

El control de calidad del instrumento DensiCHEK Plus se debe realizar con el kit de patrones densiCHEK los cuales permiten monitorizar la precisión del instrumento y por lo tanto confirmar la precisión de la suspensión del organismo.

El valor verdadero expresado en patrones MacFarland (McF) aparece impreso en la etiqueta del tubo patrón.

Desarrollo:

1. Ajustar DensiCHEK Plus en parámetro tubo de vidrio (véase manual de usuario DensiCHEK Plus).
2. Tome el patrón 0,0 McF y limpie la superficie externa con papel o algodón suave.


 Hospital Santa Cruz Calle Colchagua 1234 Santiago, Chile	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

3. Invierta 5 veces para homogenizar.
4. Inserte el patrón 0,0 McF en el equipo y pulse la tecla Cero/Desplazar. Girar una vuelta completa el patrón, lentamente. (calibración a 0).
5. Seleccionar el patrón 0,5; 2,0 y/o 3,0; limpiar su superficie externa con papel o algodón suave.
6. Homogenizar por inversión de 5 a 6 veces.
7. Insertar patrón y girar lentamente hasta que se observe el valor numérico.
8. Anotar el valor en la hoja de registro del control de calidad de DensiCHEK Plus.

* Es importante que el valor de McFarland obtenido este dentro de los rangos aceptables para material.

La responsabilidad corresponde al tecnólogo médico de microbiología

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Antibiograma por CIM; tarjetas de sensibilidad vitek 2	Por lote	Rangos según CLSI de cada año.	Revisar rótulos de las placas sembradas Revisar controles y lecturas del densicheck Revisar cepas ATCC y número de repiques Resembrar cepas ATCC Si el problema persiste comunicarse con el proveedor.
Densitómetro	Semanal	Rangos según proveedor	Si el valor del patrón está fuera de los rangos aceptables, se debe repetir los pasos del 2 al 8. Si aún el patrón cae fuera de los valores aceptables, contáctese con el proveedor

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023


Cultivo corriente y cultivos específicos

Las pruebas que corresponden a los diferentes cultivos se controlan por las placas de medios de cultivos, se realizan por lote y el responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

MEDIO DE CULTIVO	CEPA CONTROL	REQUISITO	PERIODICIDAD
		CONTROL CRECIMIENTO	
Agar Sangre	Enterococcus faecalis 29212	Colonias plomas sin hemolisis	POR LOTE
	Sthapylococcus aureus 25923	Colonias doradas betahemoliticas	
Agar Mac Conckey	Escherichia coli 25922	Colonias planas lactosa positiva	
	Klebsiella Pneumoniae BAA -1705	Colonias mucosas Lactosa positiva	
	Pseudomonas aeruginosas 27853	Colonias planas lactosa negativa	
Agar Chocolate	Streptococcus pneumoniae 49619	colonias pequeñas verdosa	
Agar Cromo streptoB	Streptococcus agalactiae CL 810	Desarrollo colonias lavanda	
Agar Thayer martin	Neisseria gonorrea (ISP)	colonia pequeña transparente	
	Neisseria meningitidis (ISP)	colonia pequeña transparente	

Las acciones correctivas corresponden a:

- Revisar fecha de vencimiento de las placas
- Revisar viabilidad de las cepas control
- Repetir en nueva placa.
- Repetir con nueva cepa control.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

Test de Helicobacter pylori

Se realiza control negativo de la técnica. Utilizando agua bidestilada con cada lote nuevo se saca el primer cassette y se trabaja con la muestra de agua como procede en el inserto del kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Helicobacter pylori	por lote	De marcar solo una línea control.	Repetir el con otro cassette. cambiar a otro lote de reactivo.

Test de Streptococcus grupo A


Se realiza control positivo y negativo incluido en el kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Test de Streptococcus grupo A	Por lote	control positivo: dos líneas. control negativo: 1 línea.	Revisar el vencimiento de los reactivos. Repetir con otro cassette

Rotavirus-Adenovirus

Se realiza control negativo de la técnica. Utilizando agua bidestilada con cada lote nuevo se saca el primer cassette y se trabaja con la muestra de agua como procede en el inserto del kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Rotavirus-Adenovirus	Por lote	De marcar solo una línea control.	Repetir el con otro cassette. cambiar a otro lote de reactivo.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

Test rápido de campylobacter

Se realiza control positivo y negativo incluido en el kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Test de Streptococcus grupo A	Por lote	control positivo: dos líneas. control negativo: 1 línea.	Revisar el vencimiento de los reactivos. Repetir con otro cassette

Test de Chlamydia Trachomatis


Se realiza control negativo de la técnica. Utilizando agua bidestilada con cada lote nuevo se saca el primer cassette y se trabaja con la muestra de agua como procede en el inserto del kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Test de Chlamydia Trachomatis	Por lote	De marcar solo una línea control.	Repetir el con otro cassette. cambiar a otro lote de reactivo.

Mononucleosis infecciosa

Se realiza control positivo y negativo incluido en el kit. El responsable es el tecnólogo médico de microbiología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
Mononucleosis infecciosa.	Por lote	control positivo: dos líneas. control negativo: 1 línea.	Revisar el vencimiento de los reactivos. Repetir con otro cassette

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1 Vigencia: 5 años Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023
	CARACTERISTICA : APL 1.3	
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	

VDRL

Se realizan cada vez que se hace la prueba como se describe en el procedimiento. El responsable es el tecnólogo médico de serología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
VDRL	Por tanda	Diluciones según proveedor.	Repetir el control. Repetir preparación de antígeno. Cambiar reactivo.

RPR


Se realiza una vez por semana como se describe en el procedimiento. El responsable es el tecnólogo médico de serología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
RPR	Semanal	Según proveedor	Repetir el control. Cambiar reactivo.

MHATP

Se realizan cada vez que se hace la prueba como se describe en el procedimiento. El responsable es el tecnólogo médico de serología.

PRUEBA	PERIODICIDAD	REQUISITO	ACCIONES CORRECTIVAS
MHATP	Por tanda	Según proveedor.	Repetir el control. Cambiar reactivo.

	CODIGO: HSC- LAB - 10	Versión: 1
	CARACTERISTICA : APL 1.3	Vigencia: 5 años
	Manual de Procedimientos de Microbiología clínica	Fecha Aprobación: Octubre de 2018 Fecha Término Vigencia: Octubre de 2023

Los registros de las pruebas VDRL, RPR y MHATP quedaran en las carpetas con los mismos nombres en la sección de serología.