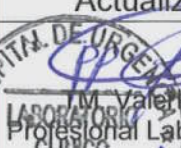
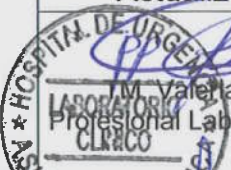
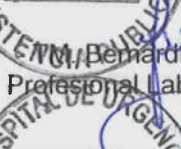
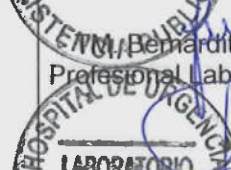


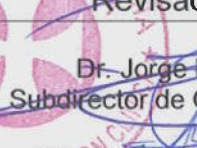
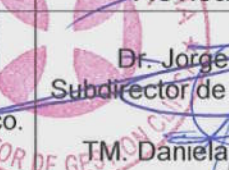
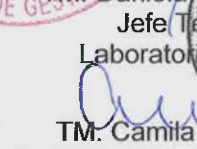
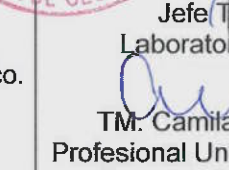
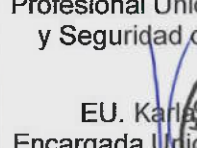
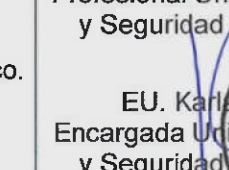
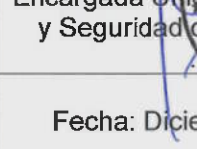
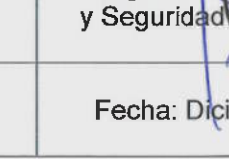



 Servicio de Salud Metropolitano Central Ministerio de Salud	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA				
	CÓDIGO APL 1.3	VERSIÓN 04	FECHA 12/2023	VIGENCIA 5 años	N° PÁGINAS 127




PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA

Actualizado Por:  M. Valeria Espina O. Profesional Laboratorio Clínico.   M. Bernardita Pacheco P. Profesional Laboratorio Clínico.   T. Bastian Venegas G. Profesional Laboratorio Clínico. 	Revisado Por:  Dr. Jorge Bañez P. Subdirector de Gestión Clínica   TM. Daniela Gutiérrez M. Jefe Técnico Laboratorio Clínico   TM. Camila Benítez Profesional Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente   EU. Karla Arce F. Encargada Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente 	Aprobado Por:  Dr. Patricio Barria A. Director. 
Fecha: Noviembre 2023	Fecha: Diciembre 2023	Fecha: Diciembre 2023


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 2 de 127

ÍNDICE


I.	INTRODUCCIÓN	5
II.	OBJETIVOS.....	5
III.	ALCANCE	5
IV.	DEFINICIONES.....	6
V.	RESPONSABLES DE LA EJECUCIÓN:.....	9
VI.	DESARROLLO DEL PROCESO:.....	9
1.	HEMOCULTIVO	10
2.	ORINA COMPLETA.....	13
3.	UROCULTIVO.....	17
4.	COPROCULTIVO	19
5.	LEUCOCITOS FECALES	21
6.	CULTIVO DE SECRECIÓN URETRAL.....	21
7.	CULTIVO DE SECRECIÓN VAGINAL.....	23
8.	CULTIVO DE SECRECIONES RESPIRATORIAS.....	26
9.	CULTIVO DE SECRECIÓN ÓTICA	30
10.	CULTIVO DE SECRECIÓN OCULAR	31
11.	CULTIVO DE SECRECIÓN NASAL.....	33
12.	CULTIVO DE SECRECIONES DE HERIDAS, ABSCESOS Y OTROS LÍQUIDOS.....	34
13.	CULTIVO DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO	36
14.	CULTIVO DE LÍQUIDO PLEURAL.....	38
15.	CULTIVO DE LÍQUIDO ARTICULAR.....	40
16.	CULTIVO DE LÍQUIDO PERICÁRDICO	42
17.	CULTIVO DE LÍQUIDO ASCÍTICO	44
18.	CULTIVO DE LÍQUIDOS ABDOMINALES.....	45
19.	CULTIVO CUANTITATIVO DE LAVADO BRONCOALVEOLAR	47
20.	CULTIVO CUANTITATIVO DE ASPIRADO ENDOTRAQUEAL	49
21.	CULTIVO DE TEJIDO CUANTITATIVO.....	52
22.	CULTIVO DE TEJIDO CORRIENTE.....	55

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 3 de 127

23.	CULTIVO DE TEJIDO ÓSEO.....	57
24.	CULTIVO CORRIENTE DE HEMODERIVADOS.....	58
25.	VIGILANCIA DE CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS Y BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.....	59
26.	DETERMINACIÓN POR PCR DE CLOSTRIDIODES DIFFICILE /(CLOSTRIDIUM DIFFICILE).....	62
27.	IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN EQUIPO VITEK MS PRIME 64	
28.	IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA EN EQUIPO VITEK-2 XL 66	
29.	INFORME DEL ANTIBIOGRAMA	73
29.1	ENTEROBACTERIAS.....	73
29.2	BACILOS NO FERMENTADORES.....	76
29.3	STAPHYLOCOCCUS	80
29.4	ENTEROCOCCUS	83
29.5	STREPTOCOCCUS	84
30.	PROCEDIMIENTO TEST DE SUSCEPTIBILIDAD POR EPSILOMETRÍA (E-test)	87
31.	TEST IDENTIFICACIÓN DE BETALACTAMASAS (BLEE - AmpC)	88
32.	SENSITEST COLISTÍN.....	90
33.	EQUIPO FILMARRAY PANEL MENINGITIS	91
34.	EQUIPO FILMARRAY PANEL SEPSIS (BCID)	94
35.	EQUIPO FILMARRAY PANEL RESPIRATORIO 2.1(INCLUYE SARS-COV2)	96
36.	EQUIPO FILMARRAY PANEL PNEUMONIA	97
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
VIII.	MODIFICACIONES DEL DOCUMENTO	100
IX.	ANEXOS	101
	ANEXO N°1: INSTRUCTIVO PARA LA SIEMBRA DE MUESTRAS	101
	ANEXO N°2: INSTRUCTIVO SIEMBRA ANTIBIOGRAMA.....	103
	ANEXO N°3: INSTRUCTIVO PARA TINCIÓN DE GRAM	105

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 4 de 127

ANEXO N°4: INSTRUCTIVO PARA LA PRUEBA DE CATALASA.....	109
ANEXO N°5: INSTRUCTIVO DE PROCESAMIENTO E INTERPRETACIÓN Micológica.....	110
ANEXO N° 6: INSTRUCTIVO PARA EL EXAMEN DE TINTA CHINA.....	111
ANEXO N°7: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VIRTUO	112
ANEXO N°8: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO VIRTUO	113
ANEXO N°9: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VITEK 2 XL .	114
ANEXO N°10: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO VITEK 2 XL	116
ANEXO N°11: MODELO DE HOJA DE TRABAJO DE CARGA VITEK MS PRIME Y DE CARGA DE CASETE EQUIPO VITEK 2 XL	117
ANEXO N°12: INSTRUCTIVO DE CARGA EQUIPO FILMARRAY	118
ANEXO N°13: MANTENIMIENTO EQUIPO FILMARRAY	120
ANEXO N°14: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPO FILMARRAY .	121
ANEXO N°15: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DE EQUIPOS LIAT	123
ANEXO N°16: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPOS LIAT	124
ANEXO N°17: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VITEK MS .	126
ANEXO N°18: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPO VITEK MS.....	127

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 5 de 127

I. INTRODUCCIÓN

La sección de Microbiología del HUAP tiene la finalidad de proveer información certera y precisa sobre la presencia de microorganismos en muestras biológicas de pacientes, los cuales pueden estar relacionados a procesos infecciosos, siendo necesaria la identificación del agente y la determinación del perfil de susceptibilidad cuando corresponda. Todo lo anterior, con la finalidad de orientar y aportar al personal clínico en el tratamiento y elección de las terapias antimicrobianas.

En el presente protocolo de procedimientos de Microbiología, se detallan todos los procesos necesarios para llegar a una correcta identificación bacteriana y determinación de susceptibilidad correspondiente; como también la ejecución de técnicas microbiológicas orientadas a la búsqueda e identificación de patógenos fúngicos y virales. Además de la pesquisa de agentes microbiológicos de importancia epidemiológica, se describe el trabajo realizado en coordinación con el Comité de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, perteneciente a la Unidad de IAAS.

La ejecución eficaz de los procesos tanto manuales como automatizados, requiere estandarizar los protocolos, establecer tanto los tiempos de respuesta oportunos como de los requerimientos técnicos mínimos necesarios para la ejecución adecuada de cada uno de los exámenes dispuestos por el laboratorio. Cumpliendo siempre con los criterios de calidad establecidos a nivel nacional e internacional, teniendo como objetivo principal el tratamiento oportuno, recuperación y bienestar de los pacientes.

II. OBJETIVOS


GENERAL

Estandarizar y documentar los procedimientos e instructivos utilizados en la sección de Microbiología.

ESPECÍFICO

Trabajar bajo normas nacionales e internacionales que permitan unificar criterios en la realización de las diversas técnicas utilizadas.


III. ALCANCE

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 6 de 127


Aplica a Profesionales y Técnicos que participan en los procedimientos de la sección de Microbiología.

IV. DEFINICIONES

- **AETC:** Aspirado Endotraqueal Cuantitativo.
- **Agar Carba Smart:** Es un medio de cultivo cromogénico y selectivo que permite el desarrollo de Enterobacterias productoras de carbapenemasas.
- **Agar Chocolate:** Es un medio de cultivo no selectivo y enriquecido. Este medio está compuesto por una base de agar rico en nutrientes y sangre calentada, que permite la hemólisis de los glóbulos rojos proporcionando al medio factor X (hemina) y factor V (NAD), necesario para el crecimiento de algunos microorganismos fastidiosos.
- **Agar CHROMID Vibrio:** Es un medio de cultivo selectivo y diferencial para el aislamiento de *Vibrio* spp. a partir de muestras de deposiciones.
- **Agar CPSE:** Es un medio de cultivo cromogénico y por tanto diferencial, que orienta la identificación de las bacterias más frecuentes involucradas en los procesos de infecciones urinarias.
- **Agar Mac Conkey:** Es un medio de cultivo selectivo y diferencial, que se utiliza en el aislamiento y diferenciación de bacterias Gram negativas fermentadoras y no fermentadoras de la lactosa.
- **Agar Muller Hinton:** Es un medio para realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco y epsilometría.
- **Mueller Hinton + 5% sangre de cordero:** Es un medio para realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco y epsilometría en cepas con mayor exigencia nutricional para su desarrollo.
- **Agar Sabouraud:** Es un medio de cultivo sólido y selectivo, especialmente enriquecido para el aislamiento y desarrollo de hongos, como levaduras, mohos y dermatofitos.
- **Agar Salmonella - Shigella:** Es un medio de cultivo selectivo y diferencial para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras de deposiciones.
- **Agar Sangre:** Es un medio de cultivo no selectivo, que permite el desarrollo de la mayoría de las bacterias, posee una base nutritiva con un agregado de 5 % de sangre de cordero.
- **AmpC:** Serin-Betalactamasas.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 7 de 127

- **Antibiograma:** Pruebas que permiten determinar la susceptibilidad in vitro de un microorganismo frente a un conjunto de antibióticos.
- **AST:** Antimicrobial Susceptibility Testing
- **Atmósfera de CO₂:** Condición atmosférica específica de dióxido de carbono al 5%, favorable para el desarrollo de algunos géneros bacterianos que lo requieren.
- **BiosLIS:** Sistema de gestión integral de laboratorios clínicos.
- **BLEE:** Betalactamasa de espectro extendido.
- **Caldo Tioglicolato:** Medio nutritivamente enriquecido utilizado para el aislamiento y cultivo de bacterias aerobias, anaerobios y fastidiosas.
- **Carbapenemasas:** Mecanismo enzimático de resistencia que adquieren algunas bacterias que les permite hidrolizar antibióticos carbapenémicos, generando resistencia a éstos.
- **CE:** Células epiteliales
- **Cepa bacteriana:** Conjunto de bacterias procedente de un solo clon obtenido de la muestra de un paciente, que puede ser multiplicado por pases sucesivos en diferentes medios de cultivo.
- **CIM:** Sigla utilizada para referirse a la Concentración Inhibitoria Mínima en el antibiograma.
- **CLSI:** Clinical and Laboratory Standard Institute.
- **DNA:** Sigla en inglés de *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido desoxirribonucleico, ADN).
- **Equipo BACT/ALERT VIRTUO:** Sistema automatizado utilizado para la detección temprana de microorganismos en hemocultivos y/o líquidos biológicos estériles. El sistema permite monitorear la acidificación del medio de cultivo a través del viraje de color del indicador de pH presente en las botellas de cultivo, lo que es reflejo de la producción de CO₂ dada la presencia de microorganismos.
- **Equipo VITEK MS PRIME:** Equipo utilizado para la identificación bacteriana y fúngica en minutos, mediante el uso de la espectrometría de masas. Particularmente, usando la tecnología de desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS en inglés).
- **Equipo VITEK 2 XL:** Equipo automatizado que permite realizar la identificación de microorganismos y susceptibilidad antimicrobiana.
- **EVR:** Sigla utilizada para referirse a cepas de *Enterococcus* Resistentes a

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 8 de 127

Vancomicina.

- **IAAS:** Infecciones Asociadas a la Atención de Salud.
- **ID:** Identificación numérica asociada al examen solicitado de un paciente.
Número correlativo en sistema BiosLis
- **IMP:** Imipenemasa. Carbapenemasa activa contra Imipenem.
- **KESC:** *Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter*.
- **KPC:** *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa.
- **LBA:** Lavado broncoalveolar.
- **LCR:** Líquido Cefalorraquídeo.
- **MBL:** Metalobetalactamasas.
- **Medio de Cultivo:** Consiste en un agar o un caldo nutritivo que contiene los nutrientes necesarios para permitir el desarrollo de microorganismos.
- **Método de Difusión en Agar:** Metodología utilizada para determinar la susceptibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Se utilizan placas de agar Mueller Hinton o Mueller Hinton sangre.
- **NDM:** Nueva Delhi Metalobetalactamasa.
- **OXA-48:** Oxacilinas- 48. Carbapenemasa de la familia de las oxacilinasas.
- **PMN:** Polimorfonucleares.
- **RNA:** Sigla en inglés de Ribonucleic acid (Ácido ribonucleico, ARN).
- **qPCR:** Sigla en inglés de *quantitative reverse transcription Polymerase Chain Reaction*. Técnica de Biología Molecular que utiliza una reacción en cadena de la polimerasa para amplificar exponencialmente un material genético objetivo (DNA y/o RNA).
- **Sistema Kern-Mic:** Software de Microbiología Clínica, que permite llevar un registro de los pacientes, muestras y resultados. Además, permite realizar estudios estadísticos con la información almacenada.
- **Solicitud de examen de laboratorio:** documento institucional, en cual se especifica los datos del paciente y los exámenes solicitados. Debe además incluir el nombre del médico solicitante del examen y su firma.
- **Susceptibilidad bacteriana:** Respuesta inhibitoria que desarrolla cada especie bacteriana frente a diferentes antibióticos *in vitro*.
- **Tinción de Gram:** Es un tipo de tinción diferencial utilizada en Bacteriología, que clasifica las bacterias que se tiñen de color azul a violeta en Gram positivas y las bacterias que se tiñen de color fucsia a rojo en Gram negativas.
- **UFC:** Unidades Formadoras de Colonias.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 9 de 127


- **VIM:** Verona integron-encoded metallo- β -lactamase.
- **VITEK GP y GN:** Tarjetas de trabajo del equipo VITEK 2 XL que permiten la identificación mediante pruebas bioquímicas de cocáceas Gram positivas (GP) y bacilos Gram negativos (GN) respectivamente.
- **VITEK AST 401, 402 y 403:** Tarjetas de trabajo del equipo VITEK 2 XL, diseñadas para el estudio de susceptibilidad de bacilos Gram negativos
- **VITEK AST 663:** Tarjetas de trabajo del equipo VITEK 2 XL, diseñadas para el estudio de susceptibilidad de cocáceas Gram positivas.
- **VITEK PICKME NIBS:** Tipo de punta plástica desechable, se requiere para la carga del equipo VITEK MS PRIME

V. RESPONSABLES DE LA EJECUCIÓN:

- **Tecnólogo Médico de Microbiología:** Procesamiento de muestras clínicas, manejo y operación de equipamiento, siembra de cultivos cuantitativos y responsable de estudios de identificación y susceptibilidad. Además, es responsable de la validación de resultados tanto negativos como positivos
- **Técnico Paramédico de recepción:** Recepción y traslado de muestras a sección de Microbiología.
- **Técnico Paramédico de Microbiología:** Chequeo de muestras, revisión de correspondencia de órdenes, etiquetado de muestras microbiológicas, preparación de muestras y materiales para siembra y cultivo. Además, realiza carga y descarga de hemocultivos en equipo automatizado.
- **Técnico Paramédico diurno:** Preparación y traslado de muestras que se derivan a otros centros, siembra de cultivos cuantitativos y preparación de material para la sección de Microbiología. Puede apoyar en labores de Técnico Paramédico de turno.

VI. DESARROLLO DEL PROCESO:

Consideración general: Toda muestra clínica debe ser considerada como material de riesgo biológico. Por tanto, éstas deben ser procesadas cumpliendo lo establecido en el *Manual de Bioseguridad de Laboratorio Clínico* institucional.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 10 de 127

1. HEMOCULTIVO

- El sistema automatizado para hemocultivos BACT/ALERT VIRTUO detecta en forma temprana la presencia de microorganismos.
- El equipo posee un detector colorimétrico que contiene sensores de emulsión líquida (SEL) en el fondo de cada botella de cultivo que cambian de color verde a amarillo cuando hay una variación en el pH por aumento de CO₂ producido por microorganismos. Independiente de cada celda, hace una lectura cada 10 minutos y cuando el software discrimina sobre el cambio de color de las botellas emite una alarma sonora que indica presencia de microorganismos.

a) Condiciones de la muestra


- Consultar en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

b) Ingreso de hemocultivos

- Ingresar orden de trabajo de la muestra al sistema BiosLIS para el registro de paciente y asignación del número correlativo.
- Cada botella de hemocultivo debe tener su propio número de identificación y solicitud de exámenes de laboratorio, indicando el tipo de obtención de la muestra (punción venosa, arrastre de catéter venoso central, arrastre de catéter de hemodiálisis, etc.) y además especificar el número de botellas tomadas al paciente.
- Etiquetar cada botella según el número correlativo asignado por el sistema. Esta etiqueta debe ser ubicada en el espacio asignado en la botella para este fin, cuidando especialmente no tapar los códigos QR presentes en la botella.
- Pesar las botellas y anotar el volumen (en la orden de trabajo) correspondiente al peso según tabla de correlación.
- Sacar la lengüeta con código de barra presente en cada botella y pegarla en su orden de trabajo correspondiente.

c) Ingreso de botellas en equipo BAC/ALERT VIRTUO

- TENS de turno debe depositar las botellas de hemocultivos sobre la banda transportadora del equipo BACT/ALERT VIRTUO, éste de forma automatizada transportará cada botella hasta una celda de incubación al interior del equipo.
- Toda botella ingresada será incubada por un período de 5 días, lo que ha sido previamente configurado en el equipo BACT/ALERT VIRTUO.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 11 de 127

- En el caso de estudio de hongos o líquidos biológicos de cavidades estériles, TENS de turno debe modificar el tiempo de incubación de cada botella individualmente en el equipo.
- El tiempo de incubación establecido para hongos es de 7 días.
- En el caso de los líquidos estériles, el tiempo de incubación es de 48 horas, con la excepción del líquido cefalorraquídeo, en cuyo caso se ha establecido un tiempo de incubación de 72 horas.
- Si existe sospecha de algún otro patógeno en particular, este debe ser indicado en la orden, para poder establecer el tiempo de incubación requerido.

Para realizar la modificación en los tiempos de incubación en el equipo:

- Acceder al ícono de búsqueda.
- Se puede buscar por: ID del paciente, nombre del paciente, número de muestra, ID del frasco.
- Acceder a Editar registro de frasco.
- Ingresar usuario y clave vigente
- Realizar cambio de días de incubación en el recuadro tiempo de análisis máximo según corresponda al caso.


d) Egreso de hemocultivos negativos del equipo

- Tras cumplir el período de incubación, si no hay desarrollo de microorganismos el equipo de forma automática expulsará la botella respectiva en un contenedor de desechos biológicos. En la medida que se eliminan botellas, el equipo registra el porcentaje de llenado del contenedor de desechos. El Tecnólogo Médico y/o TENS de turno debe revisar de forma periódica el contenedor de desechos. De haber botellas en el desecho, se debe chequear la etiqueta para junto con la orden y proceder a la validación del mismo.
- Realizar y validar en sistema informático Kern-mic y BiosLis el informe de hemocultivo negativo.

Donde se informará según corresponda:

- “Negativo a los 5 días de incubación”
- “Negativo a los 7 días de incubación”
- “Negativo a las 48 horas de incubación”
- “Negativo a las 72 horas de incubación”

e) Egreso de botellas positivas del equipo

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 12 de 127

- Cuando una botella se encuentre positiva, el equipo de manera automática dispensará esta botella hacia un depósito exterior, emitiendo además una alarma sonora, y cambiando el color de su luz de estado de verde a naranja, lo que se puede observar en la parte frontal del equipo. Además, la pantalla principal del equipo indicará el número de botellas que se encuentren positivas.
- TENS de turno debe retirar la botella positiva del contenedor exterior.
- Buscar en archivador de Hemocultivos orden de trabajo correspondiente al hemocultivo positivo.
- TENS de turno debe registrar en la orden la fecha, hora de alarma de positividad y hora del retiro de la botella del equipo.
- TENS de turno debe sembrar la muestra y realizar tinción de Gram (Anexo N°3).


f) Siembra, identificación y sensibilidad de hemocultivos positivos

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 aguja de subcultivo
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- Alcohol al 70%
- Tórula de algodón
- 1 placa de agar Sangre
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 1 placa de agar Chocolate o agar Sabouraud (Si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%
- Estufa de incubación a 25° C con atmósfera normal (sólo si procede)

Procesamiento de la muestra:

- Sembrar la muestra bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- TENS de turno debe emitir copias de la etiqueta de la botella positiva en sistema BiosLIS para el etiquetado de placas de cultivo.
- Desinfectar la goma de la botella de hemocultivo positivo con una tórula de algodón impregnada en alcohol de 70°.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 13 de 127

- Homogenizar la sangre de la botella por inversión, al menos 3 veces. Proceder a insertar la aguja de subcultivos en la goma de la botella.
- Invertir la botella e inocular una gota en una placa de agar Sangre, otra gota en la placa de agar Mac Conkey y una última gota en un portaobjetos para realizar la tinción de Gram (Anexo N°3).
- Diseminar la gota de sangre en las placas de cultivo correspondiente (Anexo N°1).
- Incubar por 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%. Por otro lado, si se observan levaduras al Gram, se debe incluir una placa de agar Sabouraud en la siembra, e incubar por 24 horas junto a las placas de agar previamente diseminadas (placas del cultivo corriente, usar la misma estufa).
- Cumplido el plazo de 24 horas de incubación, Tecnólogo Médico debe evaluar el desarrollo bacteriano de acuerdo al tipo y morfología de las colonias, si es necesario hacer tinción de Gram u otras pruebas adicionales como catalasa (Anexo N° 4)
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar en estufa a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Cumplido el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y susceptibilidad bacteriana.
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

g) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

2. ORINA COMPLETA


- El examen incluye un análisis químico con tiras reactivas y un examen microscópico del sedimento urinario post centrifugación.

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.
-

b) Análisis Químico

Materiales

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 14 de 127

- Tubo cónico para 10 mL de muestra.
- Tiras Reactivas.

Parámetros medibles

- Urobilinógeno
- Glucosa
- Cetonas
- Bilirrubina
- Proteínas
- Nitritos
- pH
- Sangre
- Gravedad específica (Densidad)
- Leucocitos
- Ácido ascórbico (Según la tira reactiva utilizada)


Procesamiento de la muestra:

- TENS de turno debe homogenizar la muestra de orina y posteriormente trasvasiarla a un tubo cónico de centrifugación, previamente etiquetado con el número correlativo de la muestra, para evaluar posteriormente el sedimento urinario.
- Observar y registrar aspecto y color de la orina en la orden u hoja de registro adjunta.
- Sacar la tira reactiva del envase y sumergirla completamente por no más de 1 segundo en la muestra de orina.
- Retirar el exceso de orina escurriendo contra el borde del tubo. Una cantidad excesiva de orina puede ser removida tocando sobre un papel absorbente.

Nota: Envase de tiras de orina se debe mantener el menor tiempo sin tapa o se debe tener precaución que el envase de tiras de orina debe mantenerse cerrado

c) Lectura e interpretación

- TENS de turno debe leer todos los cojinetes de la tira, según los tiempos indicados por el fabricante, los resultados de cada determinación deben ser expresados en términos de positivo, negativo, trazas o con valores numéricos en el caso del pH y la densidad específica. Anotar dichos resultados en la orden u hoja de registro adjunta.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 15 de 127

- Para interpretar los resultados comparar cuidadosamente con la carta de colores que se encuentra en el rótulo del envase, manteniendo la tira en posición vertical y utilizando buena iluminación.
- Los cambios de color observados sólo en las esquinas de los cojinetes o transcurridos más de 2 minutos de reacción no tienen validez diagnóstica.

d) Sedimento Urinario

Materiales

- Tubo cónico de centrifugación
- Portaobjetos 22 x 22 mm
- Cubreobjetos
- Pipeta plástica
- Centrífuga

e) Centrifugación de la muestra


- TENS de turno debe homogeneizar la muestra.
- Trasvasijar a un tubo cónico de centrifugación previamente etiquetado con el número correlativo de la muestra.
- Centrifugar la orina a 1500 rpm por un tiempo de 5 minutos.
- Eliminar el sobrenadante.
- Agitar el sedimento que se obtiene en el fondo del tubo.
- Aspirar el sedimento con pipeta plástica.
- Colocar una gota en el portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.

f) Observación en el microscopio

- Observar primero con lente 10x para visualizar de forma general la preparación, evaluando de forma particular las células epiteliales y cilindros, luego pasar al lente 40x para observar el resto de los elementos a informar.

Elementos a informar:

- Células descamativas
- Leucocitos
- Píocitos
- Eritrocitos
- Bacterias
- Cristales
- Cilindros
- Mucus

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 16 de 127

- Levaduras
- Otros elementos como *Trichomonas vaginalis*, espermatozoides, células renales.

g) Informe de los elementos

- El informe de cada elemento se reporta según la siguiente tabla:

Tabla N°1. Informe de elementos en sedimento urinario.

Células descamativas	No se observan, +/- , +, ++, +++
Leucocitos	Rango x campo
Piocytes	+/-, +, ++, +++
Eritrocitos	Rango x campo
Bacterias	No se observan, +/- , +, ++, +++
Cristales	No se observan, +, ++, +++
Cilindros	No se observan, Rango x campo
Mucus	+, ++, +++
Levaduras	+, ++, +++
Otros elementos	+, ++, +++

h) Interpretación del informe

- Las cruces reportadas se interpretan en cantidad:

Tabla N°2. Interpretación de resultados semicuantitativos

Cruces	Cantidad
+/-	Muy Escasa
+	Escasa
++	Regular
+++	Abundante

- El informe de Leucocitos y Eritrocitos por campo se realiza en base a la siguiente tabla:


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 17 de 127

Tabla N°3. Rangos de informe de Leucocitos y Eritrocitos por campo.

Elemento	Rango de referencia	Rangos de alerta					
Leucocitos por campo	0 - 5	5 - 10	10 - 25	25 - 50	50 - 100	>100	
Eritrocitos por campo	0 - 3	3 - 5	5 - 10	10 - 25	25 - 50	50 - 100	>100

- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

i) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

3. UROCULTIVO


- Los urocultivos serán procesados en función del resultado de la orina completa, teniendo como criterio el recuento de leucocitos observados por campo de aumento mayor (40x).
- Cuando el recuento se encuentre en el rango de 10 - 25 leucocitos por campo, se procederá a realizar la siembra del urocultivo.
- Al contrario, cuando esta condición no se cumpla, dicho examen no será procesado. Salvo indicaciones particulares del profesional a cargo, dada la condición clínica del paciente u otros exámenes asociados (por ejemplo: imagenología), siendo requerida la comunicación explícita al laboratorio vía telefónica u escrita en la orden médica.
- La orina debe mantenerse refrigerada por un período no mayor a 2 horas, a la espera del resultado de la orina completa.

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Gabinete de bioseguridad
- Asa calibrada de 1 µL

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 18 de 127

- Placas de agar Sangre dividida en 4 cuñas
- Placas de agar cromógeno CPSE dividida en 4 cuñas
- 1 placa de agar Chocolate o agar Sabouraud (Si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25° C con atmósfera normal (sólo si procede)

b) Procesamiento de la muestra

- TENS de turno es el responsable de la siembra de la muestra.
- Rotular las placas para la siembra con el número asignado por el LIS.
- Sembrar la muestra bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Homogenizar la muestra de orina antes de sembrar.
- Tomar una gota de 1 µL de muestra con el asa plástica calibrada.
- Inocular la muestra en una cuña de agar Sangre y diseminar en el agar siguiendo las instrucciones de siembra del (Anexo N° 1). Proceder de igual forma para sembrar y diseminar la muestra en el agar cromógeno CPSE.
- Si en la orden se indica que la muestra fue tomada por sondeo, ésta debe ser sembrada en una placa entera de agar Sangre y una placa entera de agar CPSE.
- Si la observación microscópica del sedimento urinario indica la presencia de levaduras y/o pseudohifas, se debe incluir la siembra en una placa de agar Sabouraud dividida en 4 cuñas. Tecnólogo médico debe dar esta instrucción a la TENS de turno de incluir este medio de cultivo.
- Incubar todas las placas 24 horas en estufa a 36°C con atmósfera normal.
- Cumplido el tiempo de incubación, evaluar el desarrollo bacteriano con recuento de colonias considerando que una colonia equivale a 1×10^3 UFC/mL. El urocultivo se informa en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mL. Para obtener este valor se hace un recuento de las colonias desarrolladas en la placa de agar Sangre y placa agar CPSE, donde cada colonia equivale a 1×10^3 UFC. Se considera un recuento significativo desde 30.000 UFC/mL.
- Los recuentos informados son los siguientes:
 - 30.000 UFC/mL
 - 50.000 UFC/mL
 - 70.000 UFC/mL
 - Mayor o igual a 100.000 UFC/mL

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 19 de 127

- Recuentos menores a 30.000 UFC/mL no se estudian y se informan como negativos.
- Tecnólogo Médico debe realizar la evaluación del urocultivo junto al análisis de orina completa o sedimento urinario.
- Evaluar también el tipo, morfología y color de las colonias en el agar CPSE y agar Sangre. Si es necesario hacer tinción de Gram (Anexo N° 3) u otras pruebas adicionales como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si no hay desarrollo bacteriano a las 24 horas de incubación el urocultivo se informa y posteriormente se valida en sistemas Kern- Mic y BiosLis como “Negativo a las 24 horas de incubación”.
- No obstante, en función de algunos parámetros del sedimento urinario como cantidad de células descamativas, leucocitos, piocitos y bacterias, sumado al criterio del Tecnólogo Médico y los antecedentes clínicos del paciente (terapias antimicrobianas, condiciones clínicas, etc.) recopilados para cada caso, se sugiere realizar una resiembra de la muestra de orina en agar CPSE y agar Chocolate, e incubar esta resiembra por 24 horas más.
- Si hay desarrollo de 3 o más tipos de colonias en una proporción similar, se informa como urocultivo “polimicrobiano” y se solicita el envío una nueva muestra.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.


4. COPROCULTIVO

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- Placas de agar Mac Conkey
- Placas de agar *Salmonella-Shigella* (agar SS)
- Placas de agar CHROMID Vibrio
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 20 de 127

b) Procesamiento de la muestra

- TENS de turno es el responsable de la siembra y procesamiento de la muestra. Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Revisar que los datos del paciente coincidan con la orden médica, sacar la tórula del medio de transporte (Cary Blair) e inocular en el primer cuadrante de la placa de agar Mac Conkey, agar SS y agar CHROMID Vibrio.
- Diseminar la muestra en las placas de cultivo correspondiente (Anexo N°1).
- Incubar las placas por 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal.
- Cumplido el tiempo de incubación, Tecnólogo Médico debe evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo, morfología, reacción a la lactosa y presencia de H₂S.
- Tecnólogo Médico debe aislar las colonias sospechosas de patógenos entéricos como *Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella* y/o *Yersinia*.
- Si se observa crecimiento de colonias sospechosas de *Vibrio* en agar CHROMID Vibrio.
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si no hay desarrollo bacteriano a las 18 a 24 horas de incubación o las colonias están muy pequeñas, se vuelven a incubar por 24 horas más, dejando la placa de agar Mac Conkey a temperatura ambiente para búsqueda de *Yersinia* spp.
- Cumplido el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y susceptibilidad de patógenos entéricos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación el coprocultivo se debe realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis como “Negativo para *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* y *Yersinia*”
- Si no hay desarrollo de bacterias tanto patógenas y/o comensales se procede a solicitar una nueva muestra.

c) Plazo de entrega del informe

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 21 de 127

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

5. LEUCOCITOS FECALES

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 1 portaobjeto para tinción de Gram

b) Procesamiento de la muestra

- TENS es el responsable de procesamiento de la muestra, debe rotular el portaobjeto para tinción de Gram con el número asignado.
- Con la asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio realizar la extensión de la muestra en el portaobjeto para realizar la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Evaluar microscópicamente la presencia de Leucocitos (PMN) con lente 100x.
- Se informa la presencia de leucocitos de forma semicuantitativa:

Cruces	Cantidad
+	Escasa
++	Regular
+++	Abundante


- La ausencia de leucocitos se informa como: No se observan.
- Tecnólogo Médico debe realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.
-

6. CULTIVO DE SECRECIÓN URETRAL

- En los varones, la tinción de Gram por sí sola, es suficiente para confirmar el diagnóstico clínico de *Neisseria gonorrhoeae*.
- Se debe tomar la muestra en 2 tómulas Stuart una para tinción de Gram y la otra para cultivo.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 22 de 127

- El laboratorio de Microbiología del HUAP no dispone de agar Thayer Martin, medio selectivo para el cultivo in vitro de *Neisseria gonorrhoeae*. Por lo tanto, la pesquisa de colonias sospechosas debe ser realizada en agar Chocolate. Una vez identificada la cepa *Neisseria gonorrhoeae*, esta debe ser enviada al Instituto de Salud Pública (ISP) para el estudio de vigilancia según la normativa vigente.

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 2 placas de agar Sabouraud
- 1 portaobjetos para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- TENS de turno es el encargado del procesamiento de la muestra, debe etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para tinción de Gram con el número correlativo asignado (Anexo N° 3).
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Sacar la primera tórula del medio de transporte Stuart e inocular en el primer cuadrante de las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate y las 2 placas de Agar Sabouraud (Anexo N° 1).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Sacar la segunda tórula del medio transporte y diseminar en el portaobjeto para tinción de Gram.
- Realizar tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Incubar por 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36°C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 23 de 127


- Sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal. (Anexo N°5)
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram (Anexo N° 3) aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4)
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de bacterias a las 48 horas de incubación la secreción uretral se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.
- Una vez identificada la cepa *Neisseria gonorrhoeae*, esta debe ser enviada al Instituto de Salud Pública (ISP) para el estudio de vigilancia según la normativa vigente.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

7. CULTIVO DE SECRECIÓN VAGINAL

- La sección de Microbiología del Laboratorio Clínico HUAP no dispone de agar Thayer Martin, medio selectivo para el cultivo in vitro de *Neisseria gonorrhoeae*. Por lo tanto, la pesquisa de colonias sospechosas debe ser

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 24 de 127

realizada en agar Chocolate. Cada vez que se solicite cultivo de flujo vaginal se debe realizar a la vez el examen directo del flujo vaginal.

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 2 placas de agar Sabouraud
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- TENS de turno es el responsable del procesamiento de la muestra.
- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema
- Rotular portaobjeto para tinción de Gram con el número asignado. (Anexo N° 3)
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en las 2 placas de agar Sabouraud y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36° C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25° C con atmósfera normal (Anexo N° 5)
- A las 24 horas de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y forma. Si es necesario hacer tinción de Gram (Anexo N° 3) aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 25 de 127

- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación la secreción vaginal se informa como: "Hubo desarrollo microbiota comensal vaginal".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis. Una vez identificada la cepa *Neisseria gonorrhoeae*, esta debe ser enviada al Instituto de Salud Pública (ISP) para el estudio de vigilancia según la normativa vigente

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

➤ Examen directo de flujo vaginal

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Pipeta plástica
- Tubo estéril con 3 ml de suero de suero fisiológico

b) Procesamiento de la muestra

- Tecnólogo Médico debe agitar la tórula dentro del tubo con suero fisiológico que debe estar a temperatura ambiente.
- Sacar por aspiración con pipeta plástica la solución dentro del tubo.
- Colocar la gota en el portaobjetos y cubrir con cubreobjeto.
- Tecnólogo Médico debe observar la muestra en el microscopio.
- Observar con lente 40x los elementos a informar.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 26 de 127

Elementos a informar:

- Células epiteliales
- Leucocitos
- Bacterias
- Elementos fúngicos
- Trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*.

c) Informe de los elementos

- El informe de cada elemento se reporta de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla N°4. Informe de elementos en flujo vaginal.

Células epiteliales	No se observan, +, ++, +++
Leucocitos	No se observan, +, ++, +++
Bacterias	No se observan, +, ++, +++
Elementos fúngicos	No se observan, +, ++, +++
Trofozoítos de <i>T. vaginalis</i>	No se observan, +, ++, +++

d) Interpretación del informe

- Las cruces reportadas se interpretan en cantidad.

Tabla N°5. Interpretación de resultados semicuantitativos.


Cruces	Cantidad
+	Escasa
++	Regular
+++	Abundante

e) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

8. CULTIVO DE SECRECIONES RESPIRATORIAS

- La tinción de Gram es de vital importancia en el estudio de las secreciones respiratorias, con ella se evalúa la calidad de la muestra (PMN se realiza

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 27 de 127

recuento con lente 100x y Células epiteliales con lente 10x). Se considera como muestra de buena calidad aquella en la que se observan más de 25 PMN por campo (+++) y menos de 10 células epiteliales por campo (+).

- Se considera mala calidad de la muestra aquella en la que se observan más de 25 células epiteliales por campo (+++), menos de 10 PMN (+) por campo y diferentes tipos bacterianos, esta evaluación indica presencia de microbiota comensal respiratoria y **la muestra no debe estudiarse**.
- Las muestras cuyos recuentos se encuentran dentro de los rangos entendidos como de buena calidad, se establecen en la tabla N°6.

Tipos de muestras:

- Aspirado endotraqueal
- Secreción Faríngea
- Expectoración

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 1 placa de agar Sangre
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 1 placa de agar Chocolate
- 2 placas de agar Sabouraud (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal. (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- TENS de turno debe etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado.
- Realizar la extensión de la muestra en la lámina para realizar la tinción de Gram (Anexo N° 3).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 28 de 127

- Realizar tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Evaluar la calidad de la muestra según la cantidad de PMN y CE que presente la secreción respiratoria (Tabla N°6). Si la muestra cumple con los criterios se procede a sembrar.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Para sembrar el aspirado endotraqueal, y, expectoración y aspirado nasotraqueal se debe introducir el asa en la parte más purulenta de la secreción, sacar muestra e inocular las placas de agar Sangre, agar Chocolate y de agar Mac Conkey respectivamente.
- Para sembrar la secreción faríngea, sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular la placa de agar Sangre, la placa de agar Chocolate y la placa de agar Mac Conkey.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Mac Conkey en estufa a 36° C con atmósfera normal y las placas de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Si la solicitud de examen incluye cultivo de hongos, sembrar e incubar 2 placas agar Sabouraud. Una de estas placas se debe incubar en estufa a 36°C con atmósfera normal y la otra en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N° 5)
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación y sólo se observa desarrollo de bacterias habituales del tracto respiratorio, tanto en las secreciones endotraqueales, expectoración y secreción faríngea se informan como "Hubo desarrollo de microbiota comensal respiratoria"

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 29 de 127


- Si no hay desarrollo microbiológico se informa como: “Negativo a las 48 horas de incubación”.
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como “Negativo a los 14 días de incubación”
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

Tabla N°6. Evaluación de calidad de la muestra para secreciones respiratorias.

Polimorfonucleares (100X)	Células epiteliales (10X)	Observaciones
PMN < 10 x campo	CE > 25 x campo	Se rechaza **
PMN < 10 x campo	CE 11 - 24 x campo	Se rechaza *
PMN < 10 x campo	CE < 10 x campo	Se rechaza *
PMN 11 - 24 x campo	CE > 25 x campo	Se rechaza **
PMN 11 - 24 x campo	CE 11 - 24 x campo	Evaluar cultivo ***
PMN 11 - 24 x campo	CE < 10 x campo	Aceptada ▲
PMN > 25 x campo	CE > 25 x campo	Se rechaza **
PMN > 25 x campo	CE 11 - 24 x campo	Evaluar cultivo ***
PMN > 25 x campo	CE < 10 x campo	Aceptada ▲

* Informar como “Mala calidad de la muestra” (incluir tinción de Gram, sólo PMN y CE) y añadir comentario “Solicitar evaluación de infectología para nueva toma de muestra”.

** Informar como “Mala calidad de la muestra” (incluir tinción de Gram, sólo PMN y CE). Llamar a servicio clínico para solicitar nueva muestra.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 30 de 127

*** Estudiar hasta dos patógenos, si tiene tres o más se informa como “Hubo desarrollo polimicrobiano” y se añade comentario “Solicitar evaluación de infectología para nueva toma de muestra”.

▲ Estudiar hasta dos patógenos, si tiene tres o más consultar con infectología.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

9. CULTIVO DE SECRECIÓN ÓTICA

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud. (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25° C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Sacar la tórula del medio de transporte e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36° C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 31 de 127

- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N°5).
- A las 24 horas de incubación, Tecnólogo Médico debe evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación el cultivo se informa: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.


10. CULTIVO DE SECRECIÓN OCULAR

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o Pipeta Pasteur de vidrio
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud. (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 32 de 127

- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y tubo de caldo tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N°3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36°C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N°5).
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como “Negativo a las 48 horas de incubación”.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 33 de 127

- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como “Negativo a los 14 días de incubación”
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

11. CULTIVO DE SECRECIÓN NASAL

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

Etiquetar las placas y tubo de caldo tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema

- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N°3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36°C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 34 de 127


- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal. (Anexo N° 5)
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N°4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

12. CULTIVO DE SECRECIONES DE HERIDAS, ABSCESOS Y OTROS LÍQUIDOS

a) Condiciones de la muestra

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 35 de 127

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 1 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 1 placa agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

Ingresar orden de trabajo de la muestra al sistema BiosLIS para el registro de paciente y asignación del número correlativo

- Etiquetar las placas y tubo de caldo tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Para las secreciones sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular en la placa de agar Sangre, en la placa de agar Mac Conkey, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- En el caso de los abscesos, sacar el líquido del frasco utilizando una pipeta Pasteur estéril e inocular en las placas agar Sangre, agar Mac Conkey, agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y en el portaobjeto para tinción de Gram.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Para secreciones incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Sangre, agar Mac Conkey y tubo de caldo Tioglicolato en estufa a 36°C con atmósfera normal.
- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N°5).


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 36 de 127

- Para abscesos incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Mac Conkey y tubo de caldo Tioglicolato en estufa a 36°C con atmósfera normal y las otras placas de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Cumplido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

13. CULTIVO DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 37 de 127

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 pipeta Pasteur
- 2 placas agar Sangre.
- 1 placa agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram.
- 1 tubo Khan estéril
- 1 frasco de tinta China (sólo si procede)
- Centrífuga
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.

b) Procesamiento de la muestra


- Etiquetar las placas y tubo de caldo tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjeto para la tinción de Gram con el número correlativo asignado
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Para obtener un mejor rendimiento en el cultivo de LCR, primero se debe centrifugar el líquido en un tubo de Khan estéril a 1500 rpm. por 15 minutos.
- Con pipeta Pasteur estéril sacar el sedimento e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N°3).
- Cuando se solicita examen de Tinta China (Anexo N°6) se debe dejar una gota del sedimento y además sembrar en 2 placas agar Sabouraud.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36°C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 38 de 127

- Cuando se solicita examen de Tinta China, se debe sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C atmósfera normal.
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
 - Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 y 48 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera.
 - Completado el tiempo de incubación de 48 o 72 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
 - Si no hay desarrollo a las 72 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 72 horas de incubación"
 - En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
 - Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

14. CULTIVO DE LÍQUIDO PLEURAL

a) Condiciones de la muestra

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 39 de 127


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 pipeta Pasteur
- 1 tubo Khan estéril
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal. (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Para obtener un mejor rendimiento en el cultivo de líquido pleural, primero se debe centrifugar el líquido en un tubo de Khan estéril a 1500 rpm por 15 minutos.
- Utilizando una pipeta Pasteur estéril, se debe obtener el sedimento e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas una placa de agar sangre en estufa a 36° C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N°5).
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 40 de 127

de Gram, () aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).


- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

15. CULTIVO DE LÍQUIDO ARTICULAR

a) Condiciones de la muestra

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 41 de 127


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 pipeta Pasteur
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Homogenizar la muestra. Posteriormente, utilizando una pipeta Pasteur inocular 2 placas de agar Sangre, una placa de agar Chocolate, el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36° C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 42 de 127

- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".
Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

16. CULTIVO DE LÍQUIDO PERICÁRDICO

Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 pipeta Pasteur
- 1 tubo Khan estéril
- 2 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Chocolate
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

a) Procesamiento de la muestra

- .
- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 43 de 127

- Para obtener un mejor rendimiento en el cultivo de líquido pericárdico, primero se debe centrifugar el líquido en un tubo de Khan estéril a 1500 rpm por 15 minutos.
- Utilizando una pipeta Pasteur estéril sacar el sedimento e inocular en las 2 placas de agar Sangre, en la placa de agar Chocolate, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjetos para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas una placa de agar Sangre en estufa a 36° C con atmósfera normal y la otra placa de agar Sangre más la placa de agar Chocolate en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".

Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

b) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 44 de 127

17. CULTIVO DE LÍQUIDO ASCÍTICO

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 1 placa de agar Sangre.
- 1 tubo Khan estéril
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Para obtener un mejor rendimiento en el cultivo de líquido ascítico, primero se debe centrifugar la muestra en un tubo de Khan estéril a 1500 rpm. por 15 minutos.
- Con pipeta Pasteur estéril sacar el sedimento e inocular en la placa de agar Sangre, en la placa de agar Mac Conkey, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en la lámina para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Mac Conkey en estufa a 36°C con atmósfera normal y la placa de agar sangre en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Cumplido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 45 de 127

- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "Negativo a las 48 horas de incubación".
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

18. CULTIVO DE LÍQUIDOS ABDOMINALES

Tipo de muestras:


- Líquido Peritoneal
- Otras muestras de líquido abdominal (Ver punto 12 Pág. 36)

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- 1 placa de agar Sangre.
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 1 tubo de caldo Tioglicolato
- 2 placas agar Sabouraud. (sólo si procede)
- 1 portaobjeto para tinción de Gram
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera de CO₂ al 5%

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 46 de 127

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Con pipeta Pasteur estéril sacar líquido directo (sin centrifugar y previamente homogenizado) e inocular en la placa de agar Sangre, en la placa de agar Mac Conkey, en el tubo de caldo Tioglicolato y finalmente en el portaobjeto para la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas placa agar Mac Conkey en estufa a 36° C con atmósfera normal y la placa de agar sangre en estufa a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%.
- Si procede sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C con atmósfera normal (Anexo N°5)
- Cumplido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 47 de 127

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

19. CULTIVO CUANTITATIVO DE LAVADO BRONCOALVEOLAR

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 2 placas de Agar Sangre rotuladas 0.01 y 0.0001
- 2 placas de Agar Mac Conkey rotuladas 0.01 y 0.0001
- 2 placas de Agar Chocolate rotuladas 0.01 y 0.0001
- 4 placas de Agar Sabouraud, 2 rotuladas 0.01 y 2 rotuladas 0.0001
- 1 tubo de caldo Tioglicolato rotulado 0.0001
- 2 tubos estériles con suero fisiológico (0.9 mL- 9.9 mL respectivamente)
- 1 pipeta Pasteur estéril
- 1 portaobjetos
- Vórtex (agitador)
- Puntas de micropipetas estériles
- Micropipetas de 100 y 1000 µL
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%


b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema y de las diluciones correspondientes.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- Si la muestra tiene una elevada mucosidad o tiene un aspecto compacto, se debe agregar perlas de vidrio estériles y agitar en vórtex durante 2 minutos.
- Hacer el procedimiento de diluciones y siembra en gabinete de bioseguridad.
- Colocar 0.9 mL de suero fisiológico en tubo estéril N°1.
- Colocar 9.9 mL de suero fisiológico en otro tubo estéril N°2.
- Agitar el frasco con la muestra de LBA en vórtex, hasta obtener una muestra homogénea.
- Dispensar una gota de muestra homogénea en portaobjetos para tinción de Gram (Anexo N° 3).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 48 de 127

- Agregar 100 μ L de muestra homogenizada al tubo con 0.9 mL de suero fisiológico (solución A).
- De esta nueva solución, traspasar 100 μ L de muestra al tubo con 9.9 mL de suero fisiológico (solución B).
- A las placas rotuladas 0.01 inocular con 100 μ L de solución A.
- A las placas rotuladas 0.0001 inocular con 100 μ L de solución B.
- Inocular 100 μ L de solución B en tubo caldo Tioglicolato.
- Una vez inoculadas todas las placas, diseminar la muestra por toda la superficie del agar usando asa plástica en diferentes direcciones, siembra en césped (Anexo 1)
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar Mac Conkey en estufa a 36° C. en atmósfera normal.
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar Sangre y Chocolate en estufa a 36°C en atmósfera de CO₂ al 5%.
- Sembrar e incubar 2 placas agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 2 placas en estufa a 25°C con atmósfera normal. (Anexo N°5)
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a evaluar y hacer recuento de las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas, volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación."
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Informe de resultados e interpretación

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 49 de 127

- La interpretación del recuento es necesaria para evaluar de acuerdo a los puntos de cortes establecidos, si se trata de bacterias colonizantes o infectantes que requieren de tratamiento con antibióticos.
- El cultivo se informa en Unidades Formadoras de Colonias por mL. Para obtener este valor se cuentan las colonias desarrolladas en las placas de cultivo y se hace el cálculo teniendo en cuenta lo siguiente:
 - 1 colonia en placa de dilución 0.01 es igual a 1×10^2 UFC/mL.
 - 1 colonia en placa de dilución 0.0001 es igual a 1×10^4 UFC/mL.
 - Un recuento inferior a 10^4 UFC/mL no tiene importancia clínica, siendo este desarrollo bacteriano entendido como colonización y se interpreta como cultivo negativo.
 - Un recuento igual o mayor a 10^4 UFC/mL amerita estudio.

d) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.


20. CULTIVO CUANTITATIVO DE ASPIRADO ENDOTRAQUEAL

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Micropipetas de 10, 100 y 1000 μ L
- Puntas desechables estériles
- 1 tubo de 10 mL estéril
- 1 tubo con 9.9 mL de suero fisiológico
- Perlas de vidrio estériles
- Vórtex (agitador)
- 2 placas de agar Sangre (rotuladas A y B)
- 2 placas de agar Mac Conkey (rotuladas A y B)
- 2 placas de agar Chocolate (rotuladas A y B)
- 4 placas de agar Sabouraud (rotuladas A y B si es solicitado un cultivo de hongos)
- 1 portaobjeto
- 1 pipeta Pasteur.
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 50 de 127

b) Procesamiento de la muestra


- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema y letras correspondientes.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- Utilizando asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio, depositar una pequeña cantidad de muestra (parte purulenta) sin diluir sobre un portaobjeto, previamente rotulado con el número correlativo, para realizar tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Evaluar la calidad de la muestra respiratoria, según criterios de aceptación o rechazo (Tabla N°6). Si la muestra cumple con los criterios, proceder a realizar la siembra.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Medir el volumen de la muestra comparando con un tubo graduado. Se debe agregar a la muestra un volumen de suero fisiológico igual a los mL medidos, obteniendo así una dilución 1:2.
- Agregar perlas de vidrio estériles y agitar en vórtex durante 2 minutos.
- Sacar con la micropipeta 0.1 mL (100 µL) de la dilución 1:2 y agregar a un tubo con 9.9 mL de suero fisiológico, agitar en vórtex. Con esta dilución 1:200 se procede a sembrar las respectivas placas.
- A las placas rotuladas A inocular con 100 µL de la solución.
- A las placas rotuladas B inocular con 10 µL de solución.
- Una vez inoculadas todas las placas, diseminar la muestra por toda la superficie del agar usando asa plástica en diferentes direcciones (Anexo N°1).
- Repetir este proceso en caso de solicitud de cultivo de hongos. Bajo tal caso, incubar 2 placas (A y B) de agar Sabouraud por 18 a 24 horas en estufa a 36° C en atmósfera normal, y otras 2 placas (A y B) en estufa a 25° C en atmósfera normal
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar Mac Conkey en estufa a 36° C en atmósfera normal.
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar Sangre y Chocolate en estufa a 36°C en atmósfera de CO₂ al 5%.
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a hacer recuento y evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 51 de 127

- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- Si no hay desarrollo de patógenos a las 48 horas de incubación y sólo se observa desarrollo de bacterias habituales del tracto respiratorio se informa como: "Hubo desarrollo de microbiota comensal respiratoria".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Informe de resultados e interpretación

- La tinción de Gram es de vital importancia en el estudio del AETC, con ella se evalúa la calidad de la muestra. (Ver Tabla N°6).
- Se considera como buena muestra aquella en la que se observan más de 25 PMN x campo (+++) y menos de 10 células epiteliales x campo (+).
- Se considera mala muestra aquella en la que se observan más de 25 células epiteliales x campo (+++), menos de 10 PMN (+) por campo y diferentes especies bacterianas. En este caso solo se trata de microbiota comensal respiratoria.
- El cultivo se informa en Unidades Formadoras de Colonias por mL (UFC/mL). Para obtener este valor se cuentan las colonias desarrolladas en las placas de cultivo y se hace el cálculo teniendo en cuenta lo siguiente:
 - Una colonia desarrollada en la placa A corresponde a un recuento de 2×10^3 UFC/mL.
 - Una colonia desarrollada en la placa B corresponde a un recuento de 2×10^4 UFC/mL.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 52 de 127

- La presencia de más de 50 colonias en la placa B se debe informar como un recuento mayor a 10^6 UFC/mL.
- La ausencia de colonias o un recuento menor a 1×10^4 UFC/mL se debe interpretar como cultivo negativo.
- La interpretación del recuento es necesaria para evaluar de acuerdo a los puntos de cortes establecidos si se trata de bacterias colonizantes o infectantes que requieren de tratamiento con antibióticos.
- Recuentos iguales o mayores a 1×10^4 UFC/mL ameritan estudio

d) Plazo de entrega del informe

e) Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

21. CULTIVO DE TEJIDO CUANTITATIVO


a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Set de mortero estéril
- 2 placas de agar Sangre rotuladas 0.01 y 0.0001
- 2 placas de agar Mac Conkey rotuladas 0.01 y 0.0001
- 4 placas de agar Sabouraud, 2 rotuladas 0.01 y 2 rotuladas 0.0001
- Vórtex (agitador)
- Micropipetas de 10 y 1000 μ L
- 1 portaobjeto
- 1 asa plástica o pipeta Pasteur estéril
- 3 tubos Khan con 4,5 mL de suero fisiológico estéril
- 1 tubo de tioglicolato rotulado 0.0001
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 53 de 127

- Este procedimiento está indicado solamente para las muestras de tejido provenientes de pacientes que se encuentran en el servicio clínico de Quemados. Además, se requiere como condición de procesamiento una muestra cuyo tamaño permita obtener un peso significativo de tejido (aproximadamente 0.05 g) y no ser una muestra grasa, de no cumplir con estos requisitos se debe procesar como cultivo de tejido corriente.
- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema y de las diluciones correspondientes.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- Preparar 3 tubos estériles, cada uno con 4.5 mL de suero fisiológico estéril (Tubos N° 1, 2 y 3 respectivamente).
- Pesar en la balanza analítica, el frasco con la muestra total de tejido y registrar el valor en gramos. Registrar el valor en las ordenes de trabajo como "PI" (peso inicial)
- Depositar la muestra en el mortero y adicionar 2 mL de suero fisiológico estéril.
- Pesar nuevamente el frasco vacío (sin muestra). Registrar el valor en las ordenes de trabajo como "PF" (Peso final)
- Calcular la diferencia entre ambas mediciones, lo que representa el valor del peso de la muestra de tejido expresado en gramos. Dejar registro de este valor en las ordenes de trabajo.
- Macerar el trozo de tejido con suero fisiológico en el mortero, hasta lograr una solución lo más homogénea posible.
- De la solución obtenida se deben retirar 500 µL para posteriormente dispensarlos en el tubo N°1 (4.5 mL) y homogenizar la solución obtenida mediante vórtex. Se debe realizar un cambio de la punta de la pipeta en cada paso de dilución.
- Desde la solución del tubo N°1 se deben retirar 500 µL y dispensarlos en el tubo N° 2 (4.5 mL), homogenizar esta nueva solución mediante vórtex.
- Repetir la acción anterior entre en tubo N°3.
- Desde la solución macerada original, se debe retirar una gota para dispensarla en un portaobjetos, previamente rotulado con el número correlativo de la muestra para realizar la tinción de Gram (Anexo N° 3).
- Inocular todas las placas rotuladas con la dilución 0.0001 con 100 µL de la solución del tubo N°3. (Anexo N°1) utilizando asa de vidrio o plástica estéril.
- Inocular todas las placas rotuladas con la dilución 0.01 con 100 µL de la solución del tubo N°1. Diseminar en césped utilizando asa de vidrio o plástica estéril.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 54 de 127

- Incubar por 18 a 24 horas en estufa a 36°C en atmósfera normal las placas de agar Mac Conkey.
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar sangre en estufa a 36°C en atmósfera de CO₂ al 5%.
- Incubar por 18 a 24 horas 2 placas de agar Sabouraud (0.01 y 0.0001) a 36°C en atmósfera normal
- Incubar por 18 a 24 horas 2 placas de agar Sabouraud (0.01 y 0.0001) a 25°C en atmósfera normal
- Transcurrido el tiempo de incubación, proceder a evaluar y hacer recuento de las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N°4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Informe de resultados e interpretación

- El cultivo se informa en Unidades Formadoras de Colonias por gramo de tejido, para obtener este valor se hace un recuento de las colonias desarrolladas en la placa de agar Sangre y se realiza el cálculo usando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/g de tejido} = (N \times D \times 2 \times 10) / W$$

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 55 de 127

N = Número de colonias contadas en la placa

D = Factor de dilución correspondiente a la placa

W = Peso del tejido en gramos (PF – PI)

- De lo anterior se desprende que cada colonia en las placas rotuladas 0.01 equivalen a 2.000 UFC. Por tanto, valor obtenido del recuento de colonias en estas placas, debe ser posteriormente dividido por el peso del tejido en gramos (W) para obtener el valor final de UFC/g de tejido.
- De igual manera. se desprende que cada colonia en las placas rotuladas 0.0001 equivalen a 200.000 UFC. Por tanto, valor obtenido del recuento de colonias en estas placas, de ser posteriormente dividido por el peso del tejido en gramos (W) para obtener el valor final de UFC/g de tejido.
- La interpretación del recuento es necesaria para evaluar de acuerdo a los puntos de cortes establecidos, si se trata de bacterias colonizantes o infectantes que requieren de tratamiento con antibióticos:
 - Un recuento mayor o igual a 10^4 UFC/g de tejido amerita estudio.
 - Un recuento mayor o igual a 10^7 UFC/g de tejido es indicativo de infección.
 - Recuentos inferiores a 1×10^4 UFC/mL se interpretan como bacterias colonizantes y el cultivo se reporta como negativo.

d) Plazo de entrega del informe

f) Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.


22. CULTIVO DE TEJIDO CORRIENTE

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Gabinete de bioseguridad
- Set de mortero estéril
- 1 placas de agar Sangre
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 2 placas de agar Sabouraud (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede)

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 56 de 127

- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- Rotular el portaobjetos para la tinción de Gram con el número correlativo correspondiente
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Depositar el tejido en mortero, adicionar suero fisiológico suficiente para cubrir el tejido, (Máximo 2 mL).
- Macerar el tejido hasta lograr una emulsión lo más homogénea posible.
- Utilizando una pipeta Pasteur inocular una gota de la emulsión obtenida en la placa de agar Sangre y una gota en la placa de agar Mac Conkey.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Mac Conkey en estufa a 36°C con atmósfera normal.
- Incubar por 18 a 24 horas la placa de agar Sangre en estufa a 36°C en atmósfera de CO₂ al 5%.
- Cumplido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N° 4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como “Negativo a las 48 horas de incubación”.
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como “Negativo a los 14 días de incubación”
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 57 de 127

c) Plazo de entrega del informe

g) Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

23. CULTIVO DE TEJIDO ÓSEO

a) Condiciones de la muestra


- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- 1 pipeta Pasteur y/o 1 asa plástica
- 1 tubo Caldo Tioglicolato
- 1 placa de agar Sangre
- 1 placa de agar Mac Conkey
- 2 placas de agar Sabouraud (sólo si procede)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 25°C con atmósfera normal (sólo si procede).
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

b) Procesamiento de la muestra

- Agregar 3 mL aproximadamente de caldo Tioglicolato a la muestra, o volumen suficiente necesario para cubrir la muestra.
- Incubar por 3 horas en estufa a 36°C con atmósfera normal.
- Etiquetar las placas y el tubo con medio tioglicolato para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Con pipeta Pasteur estéril sacar aproximadamente 3 gotas de caldo e inocular en la placa de agar Sangre y en la placa de agar Mac Conkey.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N°1).
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar Mac Conkey en estufa a 36° C. en atmósfera normal.
- Incubar por 18 a 24 horas las placas de agar sangre en estufa a 36°C. en atmósfera de CO₂ al 5%.
- Si procede, sembrar e incubar 1 placa agar Sabouraud en estufa a 36°C atmósfera normal y 1 placa en estufa a 25°C atmósfera normal (Anexo N°5).
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a evaluar y hacer recuento de las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, (Anexo N°3) aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N°4)

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 58 de 127

- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- En el caso de que se haya incluido un cultivo de hongos, de no haber desarrollo de elementos fúngicos. Su petición respectiva se debe informar como "Negativo a los 14 días de incubación"
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

h) Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

24. CULTIVO CORRIENTE DE HEMODERIVADOS

a) Condiciones de la muestra


- i) Debe llegar la unidad correspondiente al hemoderivado que se desea estudiar, pudiendo ser éstas glóbulos rojos, plaquetas o plasma.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio
- Placas de agar Sangre
- Placas de agar Mac Conkey
- Tijeras estériles
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.

b) Procesamiento de la muestra

- Etiquetar las placas para la siembra con el número correlativo asignado por sistema.
- La siembra se debe realizar bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 59 de 127

- Utilizando tijeras estériles cortar la tubuladura plástica de la unidad e inocular una gota del hemoderivado correspondiente en el primer cuadrante de la placa de agar Sangre y de la placa de agar Mac Conkey.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar las placas por 18 a 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal.
- Cumplido el tiempo de incubación, proceder a evaluar las colonias desarrolladas de acuerdo al tipo y morfología. Si es necesario hacer tinción de Gram, aislamientos u otras pruebas de orientación como catalasa (Anexo N°4).
- Según la evaluación de las colonias, proceder a realizar la identificación de la(s) colonias en el equipo VITEK MS PRIME, junto con el estudio de susceptibilidad en el equipo VITEK 2 XL, si corresponde (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas, volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Completado el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la evaluación de colonias, identificación y estudio de susceptibilidad de patógenos.
- Si no hay desarrollo a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como: "Negativo a las 48 horas de incubación".
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- 48 – 72 horas.


25. VIGILANCIA DE CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS Y BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Gabinete de bioseguridad

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 60 de 127

- Asa plástica o pipeta Pasteur de vidrio estéril
- Placas de agar cromógeno Carba Smart (CARB/OXA)
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal

b) Procesamiento de la muestra


- Etiquetar la placa de Carba Smart con el número correlativo asignado por sistema.
- Sacar la tórula del medio de transporte Stuart e inocular primero el compartimento CARB, y después, a continuación, el compartimento OXA.
- Diseminar la muestra en el agar correspondiente (Anexo N° 1).
- Incubar la placa por 18 a 24 horas en estufa a 36°C con atmósfera normal.
- A las 18 a 24 horas de incubación, proceder a evaluar las colonias de acuerdo al color desarrollado.
- Presencia de colonias sugerentes de bacilos Gram negativos en el compartimento CARB y OXA: pueden indicar la presencia de bacterias productoras de carbapenemasas.
- Según la evaluación realizada a las colonias en el agar cromógeno, hacer estudio de detección de carbapenemasas mediante el test rápido de detección de carbapenemasas (Coris, Resist 5 O.K.N.V.I. Resist - 5).
- Si se detecta alguna bacteria productora de Carbapenemasa, realizar la Identificación bacteriana mediante el equipo VITEK MS PRIME (Ver en Pág. N° 68-75).
- Si el cultivo está negativo o con colonias muy pequeñas a las 24 horas, volver a incubar las placas en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera antes mencionadas.
- Cumplido el tiempo de incubación de 48 horas, proceder de igual forma en la identificación de colonias, este estudio no incluye análisis de susceptibilidad.
- Si no hay desarrollo de colonias a las 48 horas de incubación el cultivo se informa como "No se detectó presencia de Carbapenemasas tipo KPC, NDM, VIM, OXA-48 e IMP a las 48 horas de incubación".
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- j) Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

d) Determinación de carbapenemasas (coris O.K.N.V.I. resist - 5)

- k) Se realiza la determinación de Carbapenemasas mediante un test rápido inmunocromatográfico, en donde se detectan los epítopes específicos de diferentes Carbapenemasas como: OXA- 48, KPC, NDM, VIM e IMP. Esto se logra al trabajar directamente de una colonia bacteriana de Enterobacterias o de Bacilos Gram negativos No fermentadores, ya sea en un estudio de

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 61 de 127

portación de carbapenemasas o un cultivo microbiológico con alta sospecha de presencia de carbapenemasas (cepas resistentes a los carbapenémicos)

Material

- Kit Coris O.K.N.V.I. Resist 5 (Kit actualizado al 2023)
- LY-A Buffer Vial (incluido en el Kit)
- Tubos cónicos de 1.5 mL rígidos desechables (incluido en el Kit)
- Gotario graduado (incluido en el Kit)
- Asa plástica
- Vórtex

e) Procedimiento

- Abrir el Kit Coris O.K.N.V.I. Resist 5, donde vienen dos cassette de flujo lateral. Uno para la detección de OXA-48, KPC, NDM y el otro para la detección de VIM e IMP.
- Agregar 11 gotas del LY-A Buffer a un tubo cónico.
- Usando un asa plástica, sacar una colonia bacteriana y sumergirla en el tubo con el buffer
- Mezclar bien la colonia bacteriana con el buffer
- Retirar el asa, cerrar el tubo y vortear hasta lograr una solución homogénea
- Abrir el tubo y dispensar una medida graduada (100 μ L aproximadamente) de la solución a casa cassette de reacción
- Dejar reaccionar durante 15 minutos y realizar lectura.

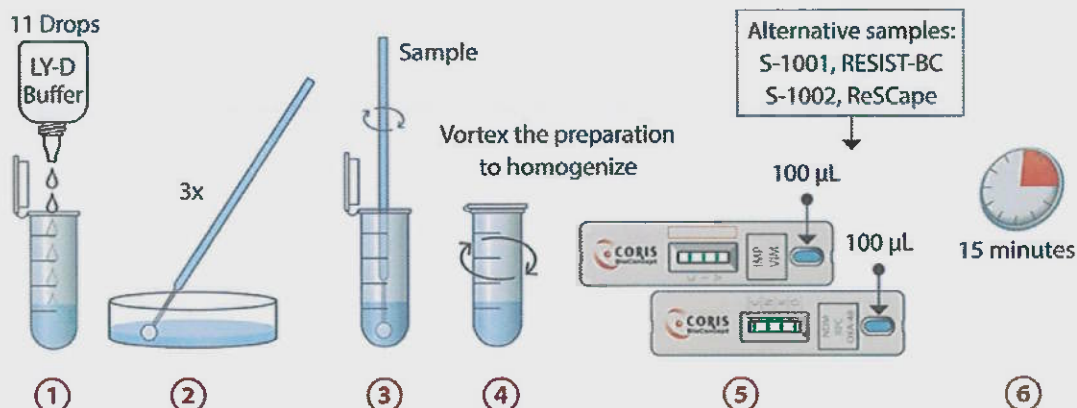



Fig. 1 Esquema representativo del procedimiento del Kit Coris O.K.N.V.I. Resist 5

f) Interpretación de los resultados

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 62 de 127

- **Positivo:** En presencia de un resultado positivo se observa una banda rojiza en la línea de control (C) además de una banda rojiza en la posición de la línea de prueba OXA- 48 (O), KPC (K), NDM (N), VIM (V) o IMP (I).
- **Negativo:** En presencia de un resultado negativo, sólo se observa una banda rojiza en la línea de control (C).
- **Inválido:** Un resultado es inválido cuando no se observa una banda rojiza en la línea de control. Se debe realizar nuevamente el test con un nuevo Kit.

26.DETERMINACIÓN POR PCR DE CLOSTRIDIODES DIFFICILE / (CLOSTRIDIUM DIFFICILE)

- El equipo Cobas LIAT, es un equipo automatizado que permite detectar cualitativamente la presencia de *Clostridioides difficile* mediante una técnica de qPCR, para la detección del gen de la toxina B (*tcdB*) de *Clostridioides difficile* toxigénico en muestras de heces líquidas o blandas.
- Es una prueba rápida de 20 minutos, que consiste en la preparación de la muestra previamente, para su posterior amplificación y detección en tiempo real de secuencias de ADN fragmentado.
- El sistema utiliza un tubo de ensayo de uso único, incluido en el kit, el cual contiene todos los reactivos para la preparación de la muestra, la extracción, purificación y amplificación de la secuencia objetivo.

a) Condiciones de la muestra


- Ver en **Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico**.

Materiales

- Cobas PCR Media Uni Swab sample kit
- Kit cobas Cdiff
- Equipo Cobas LIAT
- Vortex

b) Procesamiento de la muestra

- La muestra debe llegar al laboratorio en un frasco estéril. Es importante considerar que la muestra debe ser líquida o blanda, de no ser así, ésta debe ser rechazada por no cumplir con las condiciones de toma de muestra.
- Vortear la muestra para homogenizarla.
- Embeber la tórula presente en el Cobas PCR Media Uni Swab sample kit con la muestra de deposición.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 63 de 127

- Agitar la tórula en el tubo con medio de transporte líquido incluido en el Cobas PCR Media Uni Swab sample kit. Cortar la torula doblándola contra el tubo (posee una zona prepicada para su ruptura fácil) y dejarla dentro. Cerrar el tubo al finalizar.
- Vortear el tubo con la tórula de muestra en su interior para homogenizar.
- Abrir el Kit Cobas Cdiff
- Utilizar la pipeta plástica incluida en el kit Cobas Cdiff para tomar el máximo volumen posible de muestra desde el tubo.
- Dispensar el volumen al interior del tubo reacción de qPCR (tubo lila con tapa rosca) presente en el kit Cobas Cdiff
- Ya en el equipo LIAT. En el menú del equipo, seleccionar la opción procesar ensayo.
- Seleccionar la opción escanear y posicionar el código de barras del tubo de ensayo bajo la luz láser del equipo.
- Seleccionar nuevamente el botón escanear, para luego posicionar el código de barras del número correlativo de la muestra (BiosLIS) bajo la luz láser del equipo.
- Seleccionar nuevamente el botón escanear y posicionar proceder a escanear de nuevo el código de barras del tubo de ensayo utilizado.
- Retirar el tubo de ensayo de la funda (lila) y cargar el tubo en el equipo Cobas LIAT hasta que se escuche el “clic” que indica que se ha introducido correctamente.
- Transcurridos los 20 minutos, el equipo solicitará que retire el tubo de ensayo utilizado.
- Para visualizar los resultados, seleccionar el botón Informe.


c) Informe e interpretación de resultados

- El equipo presenta los resultados como “Detectado”, “No detectado”, “Indeterminado” o “Ensayo inválido”.

Tabla N°7. Interpretación de resultados para *Clostridiodes difficile*

	Informe de resultados
<i>Clostridiodes difficile</i>	<i>C. difficile</i> No detectado
	<i>C. difficile</i> Detectado
	<i>C. difficile</i> inválido

- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 64 de 127

d) Plazo de entrega del informe

- Ver en ***Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico.***

27. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN EQUIPO VITEK MS PRIME

El equipo se utiliza para la identificación bacteriana y fúngica, mediante el uso de espectrometría de masas. Particularmente, usando la tecnología de desorción/ionización láser asistida por matriz acoplada a tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS).


a) Procedimiento de carga de VITEK MS PRIME:

Materiales:

- Láminas VITEK MS-DS
- VITEK PICKME NIBS o asa plástica
- VITEK PICKME
- Pipeta de 2 µL
- Puntas plásticas con filtro de 2 µL
- Matriz VITEK MS CHCA
- Matriz VITEK MS FA (si procede)
- PC con acceso a software FlexPrep
- PC con acceso a software VITEK PORTAL
- Equipo VITEK MS PRIME
- Cepa *E. coli* 8739 en agar sangre

Carga de la lámina:

- Ingresar al software FlexPrep y seleccionar el equipo VITEK MS PRIME
- Ingresar el código QR de la lámina con la que se desea trabajar, utilizando un lector láser
- Ingresar los códigos QR de las matrices de trabajo CHCA y FA (si procede)
- Ingresar los códigos correlativos de las muestras a estudiar, asignándoles una posición determinada en los cuadrantes de la lámina

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 65 de 127

- Utilizando el VITEK PICKME junto con sus respectivas VITEK PICKME NIBS o asa plástica, dispensar una colonia de la Cepa *E. coli* 8739 sobre el pocillo central de un cuadrante de trabajo
- En los pocillos restantes dispensar las colonias de las cepas que se desean estudiar (utilizando VITEK PICKME NIBS o asa plástica)
- Sobre cada colonia bacteriana agregar 1 µL de Matriz VITEK MS CHCA incluyendo el pocillo central de la cepa de *E. coli* 8739
- Cuando las cepas a estudiar correspondan a levaduras, se debe adicionar previamente 0.5 µL de Matriz VITEK MS FA
- Una vez que la lámina se encuentre completamente seca, introducir al equipo VITEK MS PRIME a través de la ranura de ingreso
- El equipo de forma automática reconocerá el ingreso de la lámina y procederá a la adquisición de los espectros de masa.


Lectura de resultados:

- Acceder al software VITEK PORTAL y seleccionar el ícono VITEK MS software
- Introducir credenciales de usuario para acceder al panel de control
- Seleccionar resultados a revisar
- Seleccionar las muestras para acceder al resultado obtenido para cada aislamiento
- En función del nivel de confianza obtenido por el analizador para cada cepa, sumado al análisis profesional, proceder a validar o rechazar cada resultado.

28. IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA EN EQUIPO VITEK-2 XL

a) Características del sistema automatizado

- El sistema automatizado VITEK 2 XL permite una estandarización de los procesos bacteriológicos de identificación y susceptibilidad. Utiliza un sistema de tarjetas plásticas con micropocillos que contienen sustratos o antimicrobianos deshidratados.
- El equipo incluye un PC donde se ubican los programas: "VITEK 2 Web" y "Flex Prep Vitek".

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 66 de 127

- Además, este PC (estación de trabajo), permite la interfaz del equipo al sistema integrador MYLA, el cual actúa como un mediador para la transmisión de los resultados entre el equipo VITEK MS Prime y VITEK 2 XL, como a su vez al software de Microbiología Kern-MIC.




Fig. N° 2. Equipo VITEK 2 XL

a) Descripción del sistema

El sistema VITEK 2 XL consta de los componentes siguientes:

- Instrumento y firmware
- Estación de trabajo y software
- Sistema de alimentación ininterrumpida (UPS)
- Reactivos para ID y AST
- Densicheck Plus
- Accesorios de preparación de muestras

b) Control del VITEK 2 Densicheck Plus

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 67 de 127

El instrumento VITEK DENSICHEK Plus es un accesorio diseñado para usarse con los VITEK 2 Systems para medir la densidad óptica de una suspensión de microorganismos. El instrumento proporciona valores en unidades McFarland, proporcional a las concentraciones de microorganismos. VITEK DENSICHEK está diseñado para utilizarse con tubos de poliestireno, y el rango de lectura es de 0,00 a 4,00 McFarland.

Figura N°3 Resumen de la base con pantalla y soporte de tubos




Antes de usar el VITEK DENSICHEK Plus en muestras clínicas este se debe controlar con un set de Standard McFarland con rangos conocidos (Kit de referencias McFarland de VITEK DENSICHEK). Estos controles se deben mantener protegidos de la luz.

Control VITEK DENSICHEK Plus:

- Encender el VITEK 2 Densichek plus
- Seleccionar el tipo de tarjeta que usaremos en la pantalla.
- Ingresar lentamente en el lector el control cuyo valor de concentración McFarland es de 0.0
- Repetir esta acción con el resto del material control, los cuales deben arrojar un valor dentro de: 0.39 a 0.61 para el control de 0.5 McFarland, 1.81 a 2.19 para el control 2.0 McFarland y 2.75 a 3.25 para el control 3.0 McFarland.

Todas las lecturas realizadas deben ser registradas en la planilla de mantención usuario equipo VITEK 2 XL. (Ver anexo N°10)

c) Hoja de Trabajo de casete

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 68 de 127

- Una vez realizada la lectura de las placas de cultivos, de acuerdo a su morfología o tinción de Gram, proceder a llenar la hoja de trabajo de casete (Anexo N°11.)
- En la hoja de trabajo diario se debe registrar, fecha de preparación, nombre del profesional que hará el procedimiento, número de identificación del casete a cargar, tipo de tarjeta a cargar de acuerdo al microorganismo en estudio y número correlativo de la muestra con sus respectivas cepas aisladas.


d) Preparación del Kit Identificación / Susceptibilidad

Materiales

- Suero fisiológico 0,45 %
- Tubos plásticos desechables de poliestireno
- Gradilla para tubos
- Tórulas de madera estéril
- Tarjetas de identificación
- Tarjetas de susceptibilidad
- Casetes Vitek 2 XL
- Turbidímetro Vitek Densichek plus
- Micropipetas
- Puntas para micropipetas
- Agitador vórtex

a) Preparación del inóculo:

- Colocar en una gradilla los tubos plásticos con 3 mL de suero fisiológico 0.45%.
- Tomar con tórula estéril de madera las colonias aisladas desde un cultivo puro y emulsionar en el tubo con 3 mL de suero fisiológico.
- Agitar el tubo con la muestra ya emulsionada en el vórtex por unos segundos hasta que la mezcla quede homogénea, luego sacar el turbo del vórtex y esperar unos segundos a que la mezcla se estabilice (para poder realizar una lectura correcta de la turbidez)
- En la pantalla del VITEK Densicheck plus seleccionar el tipo de tarjeta que se cargará.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 69 de 127

- Medir la concentración McFarland en el VITEK Densicheck plus, esta concentración debe quedar ajustada según la tarjeta de identificación a utilizar en un rango de:

Tabla 8. Concentración McFarland utilizada según tipo de tarjeta.


Pantalla de visualización	Intervalos de lectura mostrados	Intervalos de funcionamiento
GN - GP	0,00-2,00	0,50-0,63
YST - BCL	0,00-4,00	1,80-2,20
CBC - NH - ANC	0,00-4,00	2,70-3,30
N/C	0,00-4,00	N/C

b) El equipo VITEK 2 XL permite realizar la carga de casete con dos modos de dilución para estudio de susceptibilidad:

- Prediluido: preparados manualmente por el técnico o usuario.
- Automático: realizado automáticamente por el equipo VITEK 2 XL.

Modo de dilución Prediluido:

- Colocar cuidadosamente el tubo con el McFarland ya ajustado en el casete, siguiendo la ubicación dada en la hoja de trabajo. Este primer tubo se usa para hacer la identificación bacteriana.
- Para el estudio de susceptibilidad tomar una alícuota del tubo primario, ponerla en un segundo tubo con 3 mL de solución suero fisiológico, mezclar y colocar a continuación del primer tubo en el casete.
- Para la susceptibilidad se usan diferentes alícuotas del inóculo primario dependiendo si es una bacteria Gram positiva o Gram negativa:
 - 145 µL para Gram negativos
 - 280 µL para Gram positivos
- Seguir este procedimiento de emulsión bacteriana con suero fisiológico ajustando la turbidez en Densicheck y haciendo el traspaso de alícuotas con todas las colonias a estudiar.
- A medida que se van realizando estas diluciones y colocando los tubos en el casete, se debe ir ingresando la tarjeta a utilizar ya sea de identificación o susceptibilidad identificándolas con su respectivo código de barras.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 70 de 127

c) Flujo de trabajo de VITEK 2 XL FLEXprep:

Este flujo de trabajo asume lo siguiente:

- Se han seleccionado las tarjetas del test de VITEK 2 XL para procesar.
- Se ha decidido si se preparan suspensiones de susceptibilidad manual o automáticamente utilizando el instrumento VITEK 2 XL.

- 1) Abrir el programa FLEXPrep desde el PC que se encuentra a un costado del VITEK 2 XL.
- 2) Ingresar usuario y clave personales.
- 3) Comprobar que todos los instrumentos y opciones de configuración de FLEXprep estén definidos correctamente.
- 4) Asignar un número de casete.
- 5) Ingresar el número de identificación de la muestra que será estudiada en la pestaña de Lab ID, en este punto identificar número de aislamiento.
- 6) Ingresar de código de barra de la tarjeta a utilizar, el software reconocerá el tipo de esta (GN, 401, 663, etc.) de forma automática.
- 7) Al utilizar tarjetas para el estudio de susceptibilidad (AST), el software es capaz de asociar la identidad de los microorganismos que hayan sido previamente identificados por VITEK MS Prime
- 8) Colocar el tubo con emulsión ya preparada del microorganismo en estudio y luego colocar la tarjeta a un tubo vacío en la posición inmediatamente siguiente.
- 9) Una vez este ingresada toda la información de la muestra, dar clic en la opción "validar" para grabar la información y continuar con el ingreso de otras muestras a estudiar.
- 10) Llenar las posiciones de los casetes en orden secuencial de la misma forma antes explicada según sea necesario de acuerdo al número de muestras que se estudiarán.
- 11) Una vez se tenga toda la información de las muestras ingresadas del casete en estudio, dar clic en "enviar casete".

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 71 de 127

- 12) Abrir la compuerta de la estación de carga de casetes del VITEK 2 XL y cargar el casete en la estación de carga de casetes teniendo la precaución de que quede bien posicionado.

d) Manejo de las Tarjetas para Identificación y Susceptibilidad

- Almacenar las tarjetas sin abrir el envase protector a una temperatura entre 2°C y 8°C.
- No usar la tarjeta si el envoltorio protector está dañado o si carece de desecante.
- Permitir que la tarjeta llegue a temperatura ambiente antes de abrir el envase, para esto sacarlas del refrigerador 30 minutos antes de su uso.
- No usar tarjetas después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilizar guantes con talco, ya que este puede afectar el sistema óptico del equipo.
- El tiempo desde la preparación de la suspensión bacteriana hasta la inoculación de la tarjeta en el equipo no debe superar los 30 minutos.

Tarjetas para identificación


- Para cócáceas Gram positivas usar la tarjeta GP.
- Para bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores usar la tarjeta GN.
- Para Levaduras tarjetas YST.
- Para bacilos Gram positivos tarjetas ANC.

Tarjetas para susceptibilidad

- En cócáceas Gram positivas del grupo *Staphylococcus* y *Enterococcus*, usar la tarjeta AST-663.
- En bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores, se pueden utilizar diferentes tarjetas AST-401, AST-402 y AST-403 dependiendo del perfil de antibióticos a estudiar.

e) Proceso en equipo Vitek-2 XL

- Una vez cargado el casete con los tubos y sus respectivas tarjetas, proceder a colocarlo en la estación de carga /descarga de casete.
- Abrir la puerta de la estación de carga, montar el casete en el portacasetes, asegurando que quede dentro de éste y proceder a cerrar la puerta.
- Luego el sistema de transporte desplaza el portacasetes hasta la estación del lector de códigos de barras. Esta estación lee la información codificada en la etiqueta de código de barras de cada tarjeta de prueba.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 72 de 127

En el código de barras se incluye la siguiente información:

- Tipo de tarjeta de prueba.
- Fecha de caducidad de la tarjeta.
- Información sobre el número de lote de la tarjeta de test y el número de secuencia que identifica de forma exclusiva una tarjeta de prueba.
- Cuando el llenado de las tarjetas está listo el equipo emite una alarma sonora y una luz parpadeante.
- Cuando la lectura de los códigos de barras y el sellado de las tarjetas está lista, el equipo indica con una luz verde parpadeante, en ese momento abrir la puerta y sacar el casete.
- Las tarjetas quedan en el interior del equipo en el módulo lector/incubador donde se mantienen incubadas a 35,5 °C, a través del sistema óptico se hacen lecturas de transmitancia cada 15 minutos, hasta lograr la identificación bacteriana y su respectiva sensibilidad. El tiempo de análisis de las tarjetas fluctúa entre 6 a 12 horas.

f) Revisión de resultados en equipo VITEK 2 XL

- La revisión de los resultados arrojados por el equipo VITEK 2 XL se debe hacer una vez obtenidos los resultados finales de identificación y sensibilidad bacteriana y se realiza en la estación de trabajo del sistema VITEK 2 web.
- La revisión de resultados se hace desde la pantalla vista principal VITEK 2 web en donde se selecciona la pestaña de "lista de trabajo".
- Luego se debe hacer un filtro con la pestaña de "fecha de análisis" e indicar la fecha que se quiere analizar.
- Seleccionar la fecha a revisar y se desplegarán todos los números de las muestras trabajadas y los estados en que se encuentran (final, preliminar)
- Seleccionar el número de la muestra a validar, hacer un clic y se despliega en la pantalla todos los caracteres a revisar:
 - Nombre del paciente
 - Número de examen
 - Organismo identificado
 - Bionúmero
 - Nivel de confianza
 - Estado de análisis
 - Mensaje de análisis
 - Resultado AES
 - Fenotipos seleccionados para revisar
 - Pruebas complementarias AST

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 73 de 127

- Antibiograma
- Una vez analizado el resultado de identificación y sensibilidad bacteriana, el equipo por medio de algoritmos definirá si ese análisis esta coherente y lo dejará en estado “final” y el “estatus de aislamiento” quedará en color verde, de todas formas, estos resultados deben ser revisados por el Tecnólogo Médico.


29. INFORME DEL ANTIBIOGRAMA

Para evitar el uso inadecuado de los antibióticos y la selección de cepas bacterianas resistentes, se ha establecido un protocolo de informe de antibióticos en función del servicio en el que se encuentra cada paciente, como además el perfil de susceptibilidad del patógeno aislado. En efecto, estableciendo una lista de antibióticos en función de líneas de tratamiento (Primera línea, segunda línea, etc. Ver desglose de tablas). A continuación, se presentan diversas consideraciones para el informe de la susceptibilidad de los géneros bacterianos de mayor prevalencia, el cual ha sido elaborado en conjunto al servicio de Infectología, IAAS y bajo los criterios establecidos por la CLSI.

29.1 ENTEROBACTERIAS

- Servicios críticos (UCI, Intermedio y Quemados): Informar todos los antibióticos sin restricción (excepto Aztreonam, Ceftazidima/Avibactam, Ceftolozano/Tazobactam).
- Servicios NO críticos: Informar antibióticos con esquema restringido según el siguiente protocolo.

ATB	CIM (ug/ml)			Observación	Esquema de tratamiento
	S	I	R		
Gentamicina	<=4	8	>=16		
Amikacina	<=16	32	>=64		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 74 de 127


Cefazolina	<=2	4	>=8		Primera línea
Cefotaxima	<=1	2	>=4		
Ciprofloxacino	<=0.2 5	0.5	>=1		
Sulfametoxazol/Trimetoprim	<=2/3 8	-	>=4/76		
Ceftriaxona	<=1	2	>=4		
Nitrofurantoína*	<=32	64	>=128		
Ceftazidima	<=4	8	>=16		
Cefepime	<=8	16	>=32	Se deben agregar si hay resistencia a Cefotaxima	Segunda línea
Piperacilina/Tazobactam**	<=16/ 4	32/4 - 64/4	>=128/ 4		
Ertapenem	<=0.5	1	>=2	Añadir carbapenémicos si la bacteria es BLEE+	Tercera línea
Imipenem	<=1	2	>=4		
Meropenem	<=1	2	>=4		
Tigeciclina***	-	-	-		Cuarta línea
Ceftazidima/Avibactam	-	-	-	Vitek 2 XL (N403)	
Colistín	-	-	-	Microdilución en caldo	

*Nitrofurantoína sólo se debe informar en urocultivos.

**Si el agente es BLEE + no informar Piperacilina/Tazobactam independiente del valor de CIM obtenido y su interpretación respectiva.

***En caso de pacientes de unidades críticas, informar siempre el valor de CIM de Tigeciclina (sin interpretación) con comentario "Resultado de TIGECICLINA queda sujeto a interpretación por infectología".


Consideraciones:

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 75 de 127

- Susceptibilidad a Cefotaxima es homologable a Ceftriaxona.
- Cefazolina en Vitek 2 XL sólo entrega valor de informe cuando es resistente. Si la cepa es sensible o intermedio no se debe incluir en el informe.
- Si Vitek 2 XL cambia la interpretación de la susceptibilidad en carbapenémicos, corregir según rangos CLSI 2023.
- En caso de que la cepa sea intermedia o resistente a Imipenem o Meropenem, realizar a criterio del TM: repetición de tarjeta de susceptibilidad y chequear CIM por epsilometría. Realizar test inmunocromatográfico para búsqueda de carbapenemasas.
- Si la cepa es productora de carbapenemasa, se debe informar en la casilla correspondiente en el antibiograma de KernMIC (igual que la BLEE)
- En grupo PPM (*Proteus* sp., *Providencia* sp. y *Morganella morganii*), sólo informar Imipenem si se encuentra sensible. CIM elevadas a este antibiótico pueden deberse a mecanismos de resistencia distintos a la producción de carbapenemasas.
- Realizar estudio de BLEE manual a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Proteus mirabilis*, cuando exista resistencia a cefalosporinas de tercera generación o el resultado obtenido por Vitek 2 XL no sea coherente.
- Para cepas de *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Serratia* sp. y *Klebsiella aerogenes* agregar observación: "Posible selección de resistencia de cefalosporinas durante el tratamiento"
- En caso de que alguna de las cepas anteriores sea resistente a una o más cefalosporinas de tercera generación realizar Test BLEE + AmpC. Ante lo cual, si se obtiene un resultado para AmpC positivo: informar Cefepime sensible. Por otro lado, si se obtiene un resultado BLEE positivo: informar Cefepime resistente.
- Susceptibilidad a Colistín y Ceftazidima/Avibactam sólo se realiza cuando existe resistencia a todo el resto de los antibióticos betalactámicos. La CIM se informa en las casillas predeterminadas para cada antibiótico, pero sin interpretación. Se debe adjuntar en comentario la metodología para Colistín (microdilución en caldo) y la siguiente nota "Resultado de COLISTIN y CEFTAZIDIMA/AVIBACTAM queda sujeto a interpretación por Infectología".

Salmonella / Shigella

COPROCULTIVO


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 76 de 127

	mm			CIM (ug/ml)			Comentarios
ATB	S	I	R	S	I	R	
Sulfametoxazol/Trimetoprim	>=1 6	11 - 15	<=1 0	<=2/3 8	-	>=4/7 6	(N401)
Ampicilina	>=1 7	14 - 16	<=1 3	<=8	16	>=32	Por difusión
Ciprofloxacino <i>Salmonella</i> spp.	>=3 1	21 - 30	<=2 0	<=0.0 6	0.12/0. 5	>=1	(N401, N402 o N403)
Ciprofloxacino <i>Shigella</i> spp.	>=2 6	22 - 25	<=2 1	<=0,2 5	0,5	>=1	(N401, N402 o N403)
SI LA CEPA ES EXTRAINTestinal AÑADIR							
	mm			CIM (ug/ml)			Comentarios
ATB	S	I	R	S	I	R	
Cloranfenicol	>=1 8	13 - 17	<=1 2	<=8	16	>=32	Por difusión
Cefotaxima				<=1	2	>=4	

29.2 BACILOS NO FERMENTADORES

Pseudomonas aeruginosa para todo tipo de muestras


- Servicios críticos (UCI, Intermedio, Quemados): Informar todos los antibióticos sin restricción.
- Servicios NO críticos: Informar antibióticos con esquema restringido según el siguiente protocolo.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 77 de 127

ATB	CIM (ug/ml)			Observación	Esquema de tratamiento
	S	I	R		
Ceftazidima	<=8	16	>=32		Primera línea
Cefepime	<=8	16	>=32		
Ciprofloxacino	<=0.5	1	>=2		
Gentamicina	<=4	8	>=16		
Amikacina	<=16	32	>=64		
Piperacilina/Tazobactam	<=16/4	32/4 - 64/4	>=128/4		
Imipenem	<=2	4	>=8	Si hay resistencia a Cefepime, añadir carbapenémicos.	Segunda línea
Meropenem	<=2	4	>=8		
Ceftazidima/Avibactam	-	-	-	Vitek 2 Compact (N403)	Tercera línea
Colistín	-	-	-	Microdilución en caldo	

Consideraciones:

- Se debe cargar tarjeta N403 a todas las *Pseudomonas aeruginosa* UPC para obtener las CIM de Ceftazidima/Avibactam y Ceftolozano/Tazobactam.
- Añadir comentario PAE: "*Pseudomonas aeruginosa* puede desarrollar resistencia durante terapia prolongada con todos los agentes antimicrobianos".


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 78 de 127

- En caso de que la cepa sea intermedia o resistente a Imipenem o Meropenem, realizar test inmunocromatográfico para búsqueda de carbapenemasas.
- Susceptibilidad a Colistín, sólo se realiza cuando es solicitado por infectología o IAAS. La CIM se informa en las casillas predeterminadas para cada antibiótico, pero sin interpretación. Se debe adjuntar en comentario la metodología para Colistín (microdilución en caldo) y la siguiente nota "Resultado de COLISTIN, queda sujeto a interpretación por Infectología".
- Se deben guardar en tubos cryobank a -20°C TODAS las PAE resistentes a carbapenémicos.

***Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex para todo tipo de muestras**

- Servicios críticos (UCI, Intermedio, Quemados): Informar todos los antibióticos sin restricción.
- Servicios NO críticos: Informar antibióticos con esquema restringido según el siguiente protocolo.

	CIM (ug/ml)			Observación	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		Primera línea
Ampicilina/Sulbactam	≤8/4	16/8	≥32/16		
Imipenem	≤2	4	≥8		
Meropenem	≤2	4	≥8		
Gentamicina	≤4	8	≥16		
Amikacina	≤16	32	≥64		
Cefepime	≤8	16	≥32		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 79 de 127


Sulfametoxazol/Trimetoprim	$\leq 2/3$ 8	-	$\geq 4/76$		
Tigeciclina	-	-	-	Informar sólo si hay resistencia a Carbapenémicos, sólo valor, sin interpretación y con comentario "Resultado de TIGECICLINA queda sujeto a interpretación por infectología".	Segunda línea
Colistín	-	-	-	Microdilución en caldo	

Consideraciones:

- Susceptibilidad a Colistín sólo se realiza cuando es solicitado por infectología o IAAS. La CIM se informa en la casilla predeterminada para el antibiótico, pero sin interpretación. Se debe adjuntar en comentario la metodología para Colistín (microdilución en caldo) y la siguiente nota "Resultado de COLISTIN queda sujeto a interpretación por Infectología".
- Se deben guardar en tubos cryobank a -20°C TODOS los ABA resistentes a carbapenémicos por si infectología solicita susceptibilidad a Colistín.

***Burkholderia cepacia complex* para todo tipo de muestras**

	CIM (ug/ml)			Comentarios	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		
Ceftazidima	≤ 8	16	≥ 32		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 80 de 127

Meropenem	<=4	8	>=16		Primera línea
Sulfametoxazol/Trimetoprim	<=2/38	-	>=4/76		

***Stenotrophomonas maltophilia* para todo tipo de muestras**


	CIM (ug/ml)			Comentarios	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		
Sulfametoxazol/Trimetoprim	<=2/38	-	>=4/76	Tarjeta N401	Primera línea
Ceftazidima	<=8	16	>=32	Añadir si hay resistencia a Cotrimoxazol . Realización sólo por CIM	Segunda línea
Levofloxacino	<=2	4	>=8	E-test	

29.3 STAPHYLOCOCCUS

- Servicios críticos (UCI, Intermedio, Quemados): Informar todos los antibióticos sin restricción (excepto Penicilina y Linezolid).
- Servicios NO críticos: Informar antibióticos con esquema restringido según el siguiente protocolo.

***Staphylococcus* spp. en infecciones del tracto urinario**

	CIM (ug/ml)			Comentarios	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		
Oxacilina <i>S. aureus</i>	<= 2	-	>=4		Primera línea
Oxacilina <i>S. saprophyticus</i>	<= 0.5	-	>=1		


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 81 de 127

Oxacilina <i>S. epidermidis</i>	≤ 0.5	-	≥ 1		Segunda línea
Sulfametoxazol/Trimetoprim	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$		
Ciprofloxacino	≤ 1	2	≥ 4		
Nitrofurantoina	≤ 32	64	≥ 128		
Vancomicina SAU	≤ 2	4-8	≥ 16		
Vancomicina SCN	≤ 4	8-16	≥ 32		

- *Staphylococcus aureus* con CIM de Vancomicina de 2 ug/ml (confirmada), se informa como un pre-informe de susceptibilidad y se envía al ISP para su chequeo.

***Staphylococcus* spp. secreciones, hemocultivos y muestras respiratorias**


	CIM (ug/ml)			Comentarios	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		Primera línea (SAMS)
Oxacilina <i>S. aureus</i> y <i>S. lugdunensis</i>	≤ 2	-	≥ 4		
Oxacilina <i>S. epidermidis</i>	$\leq 0,5$	-	≥ 1		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 82 de 127

Oxacilina <i>S. pseudointermedius</i> y <i>S. schleiferi</i>	<=0,5	-	>=1		
Oxacilina SCN	<=0,25	-	>=0,5		
Eritromicina	<=0,5	1-4	>=8	Ver D-Test	
Clindamicina	<=0,5	1-2	>=4	Ver D-Test	
Tetraciclina	<=4	8	>=16		
Gentamicina	<=4	8	>=16		
Sulfametoxazol/Trimetoprim	<=2/38	-	>=4/76		
Levofloxacino	<=1	2	>=4		Segunda línea
Vancomicina SAU	<=2	4-8	>=16	Añadir si la cepa es SAMR	
Vancomicina SCN	<=4	8-16	>=32		
Rifampicina	<=1	2	>=4		
Linezolid	<=4	-	>=8	Informar sólo si infectología o IAAS lo solicita	Tercera línea

Consideraciones:


- Ante un *Staphylococcus aureus* con CIM de Vancomicina de 2 ug/ml se debe chequear la pureza de la cepa, repetir tarjeta P663 y realizar Vancomicina por epsilometría. Si se confirma, se informa como un pre informe de susceptibilidad y se envía al ISP.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 83 de 127

29.4 ENTEROCOCCUS

- Servicios críticos (UCI, Intermedio, Quemados): Informar todos los antibióticos sin restricción (excepto Linezolid y Levofloxacin).
- Servicios NO críticos: Informar antibióticos con esquema restringido según el siguiente protocolo.

	CIM (ug/ml)			Comentarios	Esquema de tratamiento
ATB	S	I	R		Primera línea
Ampicilina	<=8	-	>=16		
Bencilpenicilina	<=8	-	>=16	No informar	
Ciprofloxacino	<=1	2	>=4	Sólo informar en urocultivo.	
Nitrofurantoina	<=32	64	>=128		
Tetraciclina	<=4	8	>=16		
Eritromicina	<=0,5	1-4	>=8		
Streptomicina AN	-	-	-		
Gentamicina AN	-	-	-		
Vancomicina	<=4	8-16	>=32	Añadir si hay resistencia a Ampicilina. Si es RESISTENTE, notificar a IAAS.	Segunda línea
Linezolid	<=2	4	>=8	Añadir si hay resistencia a Vancomicina	Tercera línea

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 84 de 127


Consideraciones:

- Se debe realizar prueba de betalactamasa con disco de nitrocefina. El resultado debe ser ingresado a Vitek 2 Compact. Si el resultado es positivo, la Ampicilina se debe interpretar como resistente.
- Para *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina añadir comentario EVR "Enterococcus faecium presenta resistencia a Vancomicina. Agente de importancia epidemiológica".
- Ante *Enterococcus faecalis* resistente a Vancomicina, repetir tarjeta 663 y realizar epsilometría. En caso de mantener fenotipo resistente dar aviso a IAAS.

29.5 STREPTOCOCCUS

Streptococcus pneumoniae invasor

ATB	mm			CIM (ug/ml)			Comentarios
	S	I	R	S	I	R	
Bencilpenicilina (no meníngeo)	-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	E-test
Bencilpenicilina (meníngeo)	-	-	-	$\leq 0,06$	-	$\geq 0,12$	
Cefotaxima (no meníngeo)	-	-	-	≤ 1	2	≥ 4	
Cefotaxima (meníngeo)	-	-	-	$\leq 0,5$	1	≥ 2	
Eritromicina	≥ 21	16-20	≤ 15	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	Ver D-Test
Clindamicina	≥ 19	16-18	≤ 15	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	Ver D-Test
Vancomicina	≥ 17	-	-	≤ 1	-	-	

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 85 de 127

Consideraciones:

- Se debe informar Vancomicina sólo a servicios críticos o en pacientes que presenten una coinfección con SAMR.

***Streptococcus* spp. grupo Viridans**


ATB	mm			CIM (ug/ml)			Comentarios
	S	I	R	S	I	R	
Bencilpenicilina	-	-	-	$\leq 0,12$	0,25-2	≥ 4	E-test
Cefotaxima	≥ 28	26-27	≤ 25	≤ 1	2	≥ 4	E-test o difusión
Eritromicina	≥ 21	16-20	≤ 15	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	
Clindamicina	≥ 19	16-18	≤ 15	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	
Vancomicina	≥ 17	-	-	≤ 1	-	-	

Consideraciones:

- Se debe informar Vancomicina sólo a servicios críticos o en pacientes que presenten una coinfección con SAMR.

***Streptococcus* B-hemolíticos (*Streptococcus agalactiae*)**

	mm	Observación	Comentarios
--	----	-------------	-------------

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 86 de 127

ATB	S	I	R	S	I	R	
Penicilina	≥ 24	-	-	ATB por difusión			Debe ser S
Cefotaxima	≥ 24						
Eritromicina	≥ 21	16-20	≤ 15				Ver D-Test
Clindamicina	≥ 19	16-18	≤ 15				Ver D-Test
Vancomicina	≥ 17	-	-				

Consideraciones:


- Se debe informar Vancomicina sólo a servicios críticos o en pacientes que presenten una coinfección con SAMR.
- Vancomicina: Sólo existe punto de corte susceptible.

Streptococcus B-hemolíticos no agalactiae

	mm			Observación			Comentarios
ATB	S	I	R	S	I	R	
Penicilina	≥ 24	-	-	ATB por difusión (salvo en casos de aislados de sitio estéril, en estos casos se debe realizar susceptibilidad por Epsilometría)			
Cefotaxima	≥ 24						
Eritromicina	≥ 21	16-20	≤ 15	ATB por difusión			Ver D-Test
Clindamicina	≥ 19	16-18	≤ 15				Ver D-Test
Vancomicina	≥ 17	-	-				

Vancomicina: Sólo existe punto de corte susceptible.

Recordar agregar el comentario según corresponda:

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 87 de 127

- “Observación: Susceptibilidad para *Streptococcus*: Eritromicina, Clindamicina y Vancomicina por método de difusión. Bencilpenicilina y Cefotaxima por método epsilométrico”.
- “Observación: Susceptibilidad para *Streptococcus*: Penicilina, Cefotaxima, Eritromicina, Clindamicina y Vancomicina por método de difusión”.

30. PROCEDIMIENTO TEST DE SUSCEPTIBILIDAD POR EPSILOMETRÍA (E-TEST)


- De acuerdo a las consideraciones mencionadas en la interpretación del antibiograma, es necesario hacer sensibilidad por Epsilometría en algunas ocasiones para confirmar la susceptibilidad reportada por el equipo VITEK 2 XL

Materiales

- Gabinete de bioseguridad
- Tubo con suero fisiológico 3 ml
- Tórulas de madera estériles
- Placas de Agar Mueller Hinton o Mueller Hinton sangre
- Tiras de antibióticos para epsilometría (Sacar del Freezer 20 minutos antes de usar)
- Pinzas metálicas estériles
- Vórtex
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%

a) Preparación del inóculo

- Tomar colonias aisladas desde un cultivo puro y emulsionar en un tubo con 3 mL de suero fisiológico.
- Medir la concentración Mac Farland en Densicheck, ajustar la concentración hasta rango un rango de 0.53 a 0.59.
- Realizar la siembra bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio.
- Introducir una tórula de madera estéril en la suspensión para luego diseminar en la placa Mueller Hinton en forma de césped. (Anexo N°2)
- Utilizando una pinza metálica estéril, coloque con la pinza la tira de Epsilometría sobre la superficie de la placa, cuidando no dejar burbujas de aire y no desplazar la tira.
- Incubar la placa por 18 a 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 88 de 127

- Realizar la lectura.

b) Lectura e interpretación

- Después de 18 a 24 horas de incubación se procede a leer la concentración del antibiótico en µg/mL en la escala numérica de la tira.
- Se lee a ojo desnudo y se informa en termino de dilución seriada de la CIM (Ej: 0.25, 0.5, 1, 2, 4,8, etc), si la lectura da un valor intermedio se informa la dilución superior (Ej: 0,75 se informa CIM 1)
- La interpretación de la lectura del Epsilometría se hará de acuerdo a los lineamientos establecidos por el CLSI correspondientes al año en curso.

31. TEST IDENTIFICACIÓN DE BETALACTAMASAS (BLEE - AMPC)


- Detección in vitro de los mecanismos de resistencia microbiana BLEE o AmpC mediante el método de difusión en agar con tabletas. Es aplicada para las cepas del grupo *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Salmonella*, *Shigella* y algunas excepciones de otras enterobacterias.

Materiales

- Tubo con 3 mL de suero fisiológico
- Densicheck
- 1 Tórula de madera estériles
- 1 placa agar Mueller Hinton
- Gabinete de bioseguridad
- Estufa de incubación a 36° C con atmósfera normal
- Kit Tabletas BLEE - AmpC
- Pinzas metálicas

a) Preparación del inóculo

- Tomar colonias aisladas desde un cultivo puro y emulsionar en un tubo con 3 mL de suero fisiológico.
- Medir la concentración McFarland en el Densicheck, debe quedar ajustada en un rango de 0.53 a 0.59.
- Sembrar la muestra bajo gabinete de bioseguridad, aplicando todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio
- Sacar tórula de madera e introducirla en la suspensión para luego diseminar en la placa Mueller Hinton en forma de césped (Anexo N°2).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 89 de 127

- Utilizando pinzas previamente esterilizadas, coloque las tabletas en la placa de agar inoculada, asegurando suficiente espacio para permitir la medición adecuada de las zonas de inhibición.
- Incubar la placa por 18 a 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal.
- Medir y registrar el diámetro de la zona de inhibición.

• **Tabletas:**

- Cefotaxima 30 µg (CTX30)
- Cefotaxima 30 µg + Ácido clavulánico (CTX+C)
- Cefotaxima 30 µg + Cloxacilina (CTXCX)
- Cefotaxima 30 µg + Ácido clavulánico + Cloxacilina (CTXCC)

b) Interpretación de resultados


- Esta prueba está diseñada para la detección de cepas productoras BLEE y/o AmpC. La resistencia de un microorganismo puede detectarse fácilmente por las diferencias en las zonas de inhibición de Cefotaxima sólo y la combinación con los inhibidores. Para sospecha de BLEE se utiliza ácido clavulánico y para AmpC Cloxacilina. Posee un control del test con la combinación (Cefotaxima + ácido Clavulánico + Cloxacilina).

Tabla N°9. Interpretación de resultados para Test BLEE-AmpC.

Cefotaxima : Halo control $\Delta \geq 5$ mm (+)			
Cefotaxima + Ácido clavulánico	(+)	(-)	(+)
Cefotaxima + Cloxacilina	(-)	(+)	(+)
Cefotaxima + Ácido clavulánico + Cloxacilina	(+)	(+)	(+)
	BLEE	AmpC	BLEE + AmpC

c) Plazo de entrega del informe

- Negativo: 48 horas
- Positivo: 48 - 72 horas

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 90 de 127

32. SENSITEST COLISTÍN

- Este panel contiene Colistín (Polimixina) de forma liofilizada, en presentación de 7 diluciones (0,25 a 16 µg/mL). El sistema se utiliza para realizar el método de microdilución en caldo para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, para poder determinar la concentración inhibitoria mínima, tal como lo recomiendan los estándares internacionales.

Materiales


- Micropipetas 1000 µL
- Puntas desechables estériles
- 4 paneles de Colistín SensiTest (Paneles envasados individualmente en papel de aluminio con gel de sílice desecante)
- 1 vial de caldo Mueller Hinton
- Papel de sellado
- Suero fisiológico

a) Preparación del inóculo

- Tomar colonias aisladas desde un cultivo puro y emulsionar en un tubo con 3 mL de suero fisiológico.
- Medir la concentración McFarland en el Densicheck, debe quedar ajustada en un rango de 0.53 a 0.59 (Solución madre)
- En gabinete de bioseguridad, aplicar todas las medidas de bioseguridad vigentes en el laboratorio, proceder a realizar una dilución 1:20 de la solución madre. Para ello, tomar 1900 µL de suero fisiológico más 100 µL de la solución madre (Solución A).
- Extraer 400 µL de Solución A y agregarlos al vial de caldo Mueller Hinton II (Solución B).
- Rotular el panel con el número de petición en los recuadros de la parte inferior (a, b, c y d).
- Agregar 100 µL de Solución B en cada uno de los pocillos del panel de CIM.
- Cubrir el panel con cinta adhesiva aportada por el Kit.
- Cubrir con la tapa.
- Incubar la placa por 20 a 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal.
- Leer con fondo oscuro.

b) Interpretación de resultados

- Al final del período de incubación, observe el crecimiento en los pocillos.
- El crecimiento aparece como un botón en el centro.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 91 de 127

- El primer pocillo sin desarrollo bacteriano (sin botón) corresponde a la CIM.
- La lectura de forma visual puede mejorar con el uso de iluminación sobre un fondo oscuro.

c) Plazo de entrega del informe

- **Negativo:** 48 horas.
- **Positivo:** 48 - 72 horas

33. EQUIPO FILMARRAY PANEL MENINGITIS

- El Panel Meningitis está indicado como ayuda en el diagnóstico de agentes específicos de meningitis o encefalitis. Sus resultados deberán utilizarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio (algoritmo elaborado por IAAS).
- Mediante Panel FilmArray se pueden identificar los siguientes organismos:

Bacterias:

- *Escherichia coli* K1
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Neisseria meningitidis* (encapsulada)
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*

Virus:


- *Cytomegalovirus* (Citomegalovirus)
- *Enterovirus*
- *Herpes simplex virus* 1 (Virus del herpes simple tipo 1)
- *Herpes simplex virus* 2 (Virus del herpes simple tipo 2)
- *Human herpesvirus* 6 (Herpes virus humano 6)
- *Human parechovirus* (Parechovirus humano)
- *Varicella zoster virus* (Virus varicela-zóster)

Levaduras

- *Cryptococcus neoformas/gatii*

a) Condiciones de la Muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 92 de 127

Materiales

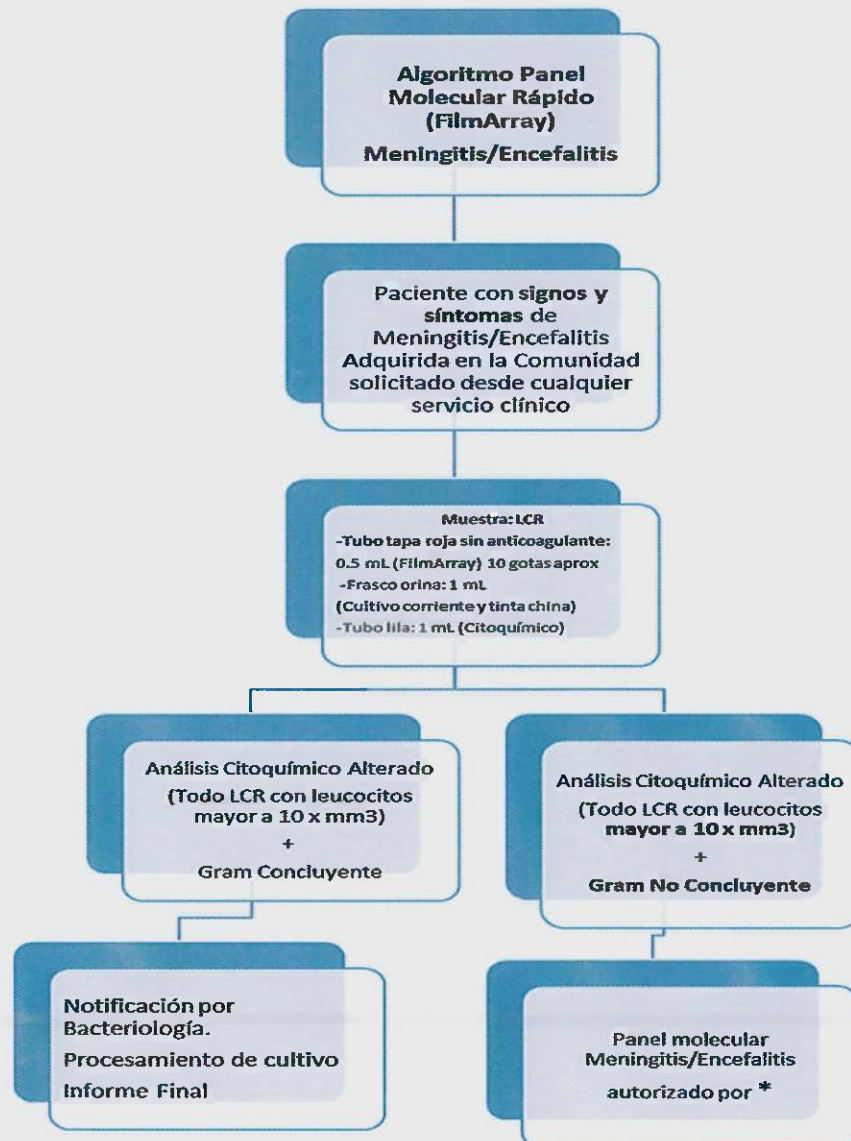
- Estación de carga de cartucho
- Cartucho (pouche) de FilmArray ME Panel envasado individualmente
- Ampolla (tampón de la muestra) 1 mL
- Viales de inyección de hidratación 1.5 mL (azul)
- Viales de inyección de muestras (rojo)
- Pipeta de transferencia

b) Procesamiento de la muestra


- Ingresar y asignar a la muestra (tubo rojo) el número correlativo obtenido por sistema.
- Utilizar guantes.
- Limpiar cuidadosamente con cloro 0,5% la superficie del gabinete (cabina de bioseguridad) y la estación de carga del cartucho.
- Cambiarse los guantes.
- Proceder según las indicaciones de carga de Filmarray (Anexo N°12).
- Utilizando la pipeta de transferencia, extraer la muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) hasta la segunda línea.
- Continuar con el procedimiento de carga de Filmarray hasta ingresarlo en el equipo.
- El Panel Meningitis se debe cargar sólo si cumple con el algoritmo que se especifica a continuación (en casos excepcionales en donde no se cumpla el algoritmo, este puede ser solicitado por el equipo de Neurólogos o por Infectología.):

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 93 de 127

- **Algoritmo de trabajo**



- En el caso de que no cumpla con el algoritmo de trabajo, se informa como: “No se procesa muestra, ya que no cumple con el algoritmo elaborado por IAAS”.
- Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.
-
- **c) Plazo de entrega del informe**
- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 94 de 127

34. EQUIPO FILMARRAY PANEL SEPSIS (BCID)

- Está indicado como ayuda en el diagnóstico de agentes específicos de sepsis y fungemia y sus resultados deben utilizarse junto a hallazgos clínicos y de laboratorio. Los resultados positivos no descartan la infección simultánea con organismos no incluidos en el panel. Un punto importante que destacar, el panel no está previsto para realizar un seguimiento del tratamiento de sepsis o fungemia.
- El panel FilmArray detecta los siguientes organismos y mecanismos de resistencia:

Bacterias Gram positivas:


- *Enterococcus*
- *Listeria monocytogenes*
- *Staphylococcus*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*

Bacterias Gram negativas

- *Acinetobacter baumannii*
- *Enterobacteriaceae*
- Complejo *Enterobacter cloacae*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus*
- *Serratia marcescens*
- *Haemophilus*
- *Neisseria meningitis* (encapsulado)
- *Pseudomonas aeruginosa*

Levaduras

- *Candida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Candida krusei*

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 95 de 127

- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis*

Genes de resistencia a antibióticos

- **mecA**: resistencia a meticilina
- **vanA/B**: resistencia a Vancomicina
- **KPC**: resistencia a cabapenemicos

a) Condiciones de la Muestra

- La muestra corresponde a un frasco de hemocultivo positivo, en donde previamente se haya realizado una tinción de Gram.
- Volumen de la muestra: 200 µl

Materiales


- Estación de carga de cartucho
- Cartucho de FilmArray BCID (Panel envasado individualmente)
- Ampolla (Tampón de muestra) 1.0 ml
- Viales de inyección de hidratación 1.5 ml (azul)
- Viales de inyección de muestras (rojo)
- Jeringa de extracción muestra.

b) Procesamiento de la muestra

- Ingresar y asignar a la muestra (hemocultivo positivo) el número correlativo obtenido por sistema.
- Utilizar guantes.
- Limpiar cuidadosamente con cloro 0,5% la superficie del gabinete (cabina de bioseguridad) y la estación de carga del cartucho.
- Cambiarse los guantes.
- Proceder según las indicaciones de carga de Filmarray (Anexo N°12).
- Utilizando una jeringa, extraer 200 µl de muestra del frasco de hemocultivo.
- Continuar con el procedimiento de carga de Filmarray hasta ingresarlo en el equipo.
- La solicitud del Panel sepsis es de uso exclusivo para el equipo de Infectología e IAAS.
 - Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 96 de 127

35. EQUIPO FILMARRAY PANEL RESPIRATORIO 2.1 (INCLUYE SARS-COV-2)


- El Panel Respiratorio 2.1 (RP 2.1) permite la detección e identificación de ácidos nucleicos específicos de virus y bacterias procedentes de individuos que presenten signos y síntomas de una infección respiratoria, en conjunto de la información clínica y epidemiológica.
- El Panel Respiratorio 2.1 identifica los siguientes microorganismos e incluye actualmente la detección de SARS-CoV-2:
 - *Adenovirus*
 - *Coronavirus 229E*
 - *Coronavirus HKU1*
 - *Coronavirus NL63*
 - *Human Metapneumovirus (Metaneumovirus humano)*
 - *Human Rhinovirus/ Enterovirus (Rinovirus humano)*
 - *Influenza A*
 - *Influenza B*
 - *Parainfluenza Virus 1*
 - *Parainfluenza Virus 2*
 - *Parainfluenza Virus 3*
 - *Parainfluenza Virus 4*
 - *Virus respiratorio sincitial*
 - *Bordetella pertussis*
 - *Chlamydia pneumoniae*
 - *Mycoplasma pneumoniae*
 - *SARS-CoV-2*

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales

- Estación de carga de cartucho
- Cartucho de FilmArray RP 2.1 (Panel envasado individualmente)
- Ampolla (tampón de la muestra) 1 ml
- Viales de inyección de hidratación 1.5 ml (azul)
- Viales de inyección de muestras (rojo)
- Pipeta de transferencia

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 97 de 127

– Vórtex

b) Procesamiento de la muestra

- Utilizar guantes.
- Limpiar cuidadosamente con cloro 0,5% la superficie del gabinete (cabina de bioseguridad) y la estación de carga del cartucho.
- Cambiarse los guantes.
- Proceder según las indicaciones de carga de Filmarray (Anexo N°12).
- Mezclar la muestra (tórula) con el Medio de transporte Universal (MTU) utilizando un vórtex.
- Luego, utilizando la pipeta de transferencia, extraer la muestra (MTU) hasta la tercera línea.
- Continuar con el procedimiento de carga de Filmarray hasta ingresarlo en el equipo.
- La solicitud del Panel Respiratorio 2.1 debe ser autorizada por IAAS.
- La orden debe venir con todos los datos del paciente y además con los N° de Epivigilia y N°ID.
 - Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe


- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.

36. EQUIPO FILMARRAY PANEL PNEUMONIA

- El Panel pneumonia permite la detección de virus, bacterias y mecanismos de resistencia, que causan neumonía y otras infecciones del tracto respiratorio inferior. Esta prueba se puede realizar a partir de muestras de Lavado Broncoalveolar o Esputo (Aspirado Endotraqueal). Las bacterias se detectan de manera semi cuantitativa en número de copias/mL.
- Los microorganismos y mecanismos de resistencia detectados son los siguientes:

Bacterias

- *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex*
- *Enterobacter cloacae*
- *Escherichia coli*
- *Haemophilus influenzae*
- *Klebsiella aerogenes*
- *Klebsiella oxytoca*

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 98 de 127

- *Klebsiella pneumoniae* group
- *Moraxella catarrhalis*
- *Proteus* spp.
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Serratia marcescens*
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*

Bacterias atípicas

- *Legionella pneumophila*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydia pneumoniae*

Virus


- *Influenza A*
- *Influenza B*
- *Adenovirus*
- *Coronavirus*
- *Virus parainfluenza*
- *Virus Respiratorio Sincitial (VRS)*
- *Rinovirus/Enterovirus humanos*
- *Metapneumovirus humano*

Genes de resistencia a antibióticos

- ESBL
- CTX-M

Carbapenemasas

- KPC
- NDM
- Oxa48 - like
- VIM
- IMP

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 99 de 127

Resistencia a la Meticilina

– mecA/mecC and MREJ

a) Condiciones de la muestra

- Ver en *Manual de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

Materiales


- Estación de carga de cartucho
- Cartucho de FilmArray Panel Pneumonia (Panel envasado individualmente)
- Ampolla (tampón de la muestra) 1 ml
- Viales de inyección de hidratación 1.5 ml (azul)
- Viales de inyección de muestras (rojo)
- Hisopo de muestra

b) Procesamiento de la muestra

- Ingresar y asignar a la muestra (hisopado nasofaríngeo) el número correlativo obtenido por sistema.
- Utilizar guantes.
- Limpiar cuidadosamente con cloro 0,5% la superficie del gabinete (cabina de bioseguridad) y la estación de carga del cartucho.
- Cambiarse los guantes.
- Proceder según las indicaciones de carga de Filmarray (Anexo N°12).
- Utilizando el Hisopo de muestra, agitar cuidadosamente la muestra de LBA o AET durante aproximadamente 10 segundos.
- Luego, introducir el hisopo en el vial de inyección de muestra y romper el mago del hisopo.
- Continuar con el procedimiento de carga de Filmarray hasta ingresarlo en el equipo.
- La muestra debe venir autorizada por el equipo de IAAS o por el médico Broncopulmonar.
- Se considera una buena muestra de AET aquella que presenta en la tinción de Gram: PMN > 25 por campo y CE < 10 por campo.
 - Realizar y validar informe en el sistema informático Kern-mic y BiosLis.

c) Plazo de entrega del informe

- Ver en *Protocolo Tiempos de respuesta de Laboratorio Clínico*.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 100 de 127

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Manual of Clinical Microbiology. Murray y Cols. 7ª Ed.
- Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First. M 100-S21. Clinical and Laboratory Standard Institute. January 2011.
- Manual de Microbiología Clínica. Francisco Montiel – Marusella Lam. 2001
- Microbiología Médica. Jawetz y Cols. 15ª
- Manual del usuario del instrumento VITEK-2 XL. Biomérieux
- Manual del usuario del equipo VIRTUO. Biomérieux
- Procedimientos Técnicos para la ejecución del uroanálisis en la red de laboratorios del Servicio de Salud Metropolitana Central.
- Manual de usuario FilmArray para uso diagnóstico in Vitro.
- Protocolo Toma de Muestra, Hospital de Urgencia Asistencia pública-octubre 2022

VIII. MODIFICACIONES DEL DOCUMENTO

SÍNTESIS DE MODIFICACIONES			RESPONSABLE MODIFICACIÓN	APROBADO POR
VERSIÓN	FECHA	CAUSA DE MODIFICACIÓN		
02	08/2016	Actualización	TM. Olga Sureda TM. Valeria Espina TM. Daniela González Profesionales Unidad de Laboratorio Clínico	Dr. Carlos Fariña Jefe de Laboratorio Clínico
03	07/2021	Actualización	TM. Camila Ibarra TM. Sebastián Venegas Profesionales Unidad de Laboratorio Clínico	Dr. Luis Carrasco Director

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 101 de 127

IX. ANEXOS

ANEXO N°1: INSTRUCTIVO PARA LA SIEMBRA DE MUESTRAS

Propósito:

Realizar un correcto procedimiento en la siembra de muestras biológicas para obtener un buen rendimiento en el cultivo, que permita un diagnóstico certero.


- La siembra de muestras biológicas se debe hacer siempre bajo gabinete, lo antes posible, y con todas las normas de bioseguridad disponibles.
- Se debe revisar cuidadosamente que los datos del paciente registrados en la orden de solicitud del examen correspondan con los datos del rótulo de la muestra.
- Rotular las placas a sembrar con etiqueta con el número de folio de cada muestra la cual es obtenida desde BiosLis.

***Excepción:** Sólo en el caso de la siembra de urocultivos en que las placas están divididas en 4, en cada cuadrante se debe anotar con lápiz marcador permanente los últimos 4 números del folio de la muestra (en paralelo en las placas de agar sangre y agar CPSE)

Descripción del procedimiento:

Muestras de secreciones tomadas en tórula

- Sacar la tórula del medio de transporte y colocar el inóculo en el primer cuadrante de la placa de agar.
- Hacer este procedimiento en todas las placas a sembrar de acuerdo al protocolo de siembras para cada muestra, finalmente pasar la tórula en un portaobjetos para la tinción de Gram.
- Devolver la tórula al medio de transporte para desechar posteriormente contenedor de desechos biológicos color amarillo.
- Con un asa de siembra de plástico estéril, extender la muestra por el segundo cuadrante en forma de estrías, pero sin hacer presión para no dañar el agar.
- Este proceso se repite sucesivamente con el asa al comienzo de las sucesivas estrías en el tercer y cuarto cuadrante de la placa.
- Una vez sembradas las placas, se colocan en posición invertida dentro de la estufa de incubación correspondiente, de acuerdo a la atmósfera indicada para cada muestra en su respectivo procedimiento de siembra.

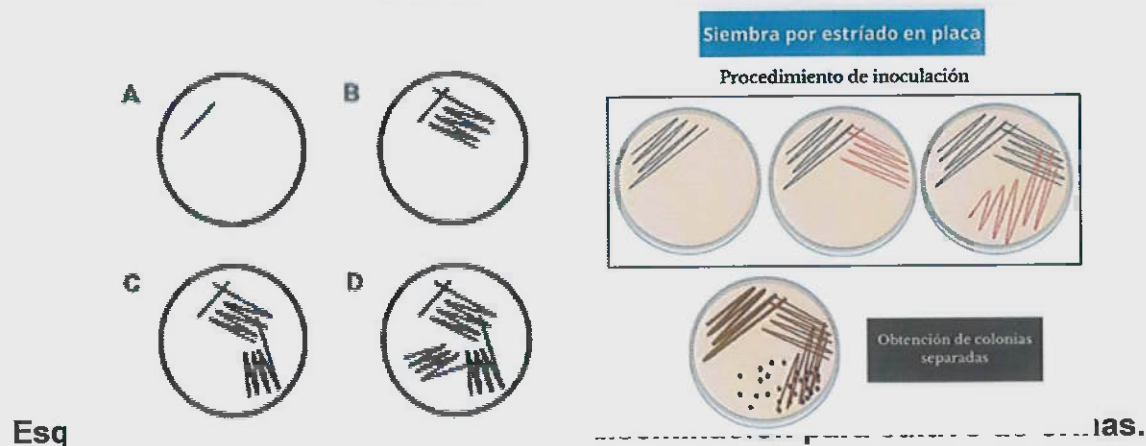
	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 102 de 127


Muestras de líquidos u otras secreciones tomadas en frasco estéril

- Sacar muestra del frasco directo o del sedimento con pipeta Pasteur de vidrio estéril, depositar una gota de este inóculo en el primer cuadrante de cada una de las placas a sembrar de acuerdo al procedimiento de siembras descrito para cada muestra, finalmente colocar una gota (diseminar a criterio según densidad del líquido, para favorecer la observación) en un portaobjetos para la tinción de Gram
- Tapar el frasco que contiene la muestra para posteriormente guardarlo en refrigerador asignado para almacenamiento de líquidos estériles.
- Con un asa de siembra de plástico estéril, extender la muestra por el segundo cuadrante en forma de estrías, pero sin hacer presión para no dañar el agar.
- Este proceso se repite sucesivamente con el asa al comienzo de las sucesivas estrías en el tercer y cuarto cuadrante de la placa.

Muestras de orina tomada en frasco plástico estéril

- Homogeneizar muy bien la muestra de orina en el frasco contenedor antes de sembrar.
- Introducir el asa de plástico estéril en forma vertical en el frasco de orina y sacar 1 μ L de muestra.
- Depositar este inóculo haciendo una línea recta en la mitad de la cuña de agar sangre y agar CPSE partiendo desde el borde exterior de la placa hacia el centro.
- Proceder a hacer la estría de diseminación de la muestra en forma de zig-zag desde el borde exterior de la placa hacia el centro.
- Proceder con esta misma técnica de siembra a inocular la cuña de agar CPSE.
- Una vez sembrada la muestra, las placas se colocan en la gradilla de urocultivos en posición invertida dentro de la estufa de incubación con atmósfera normal.



	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 104 de 127

El método de difusión en agar se utiliza para determinar la susceptibilidad de un microorganismo frente a distintos antibióticos se debe realizar la siembra de la bacteria proveniente de un cultivo puro en un medio con la capacidad de difundir cada uno de los antibióticos a testear. Este es el medio de Mueller Hinton y Mueller Hinton sangre (*Streptococcus*).


Materialles

- Gabinete de bioseguridad
- Tubo con suero fisiológico 3 mL
- Tórulas de madera estériles
- Placas de Agar Mueller Hinton o Mueller Hinton sangre
- Pinzas metálicas estériles
- Discos antibióticos
- Vórtex
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera normal.
- Estufa de incubación a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5%


Preparación del inóculo

- Dejar secar la superficie de la placa entre 3 y 5 minutos, pero nunca más de 15 minutos, esto altera el resultado del antibiograma.
- Utilizando una pinza metálica estéril, coloque con la pinza los discos del antibiótico sobre la superficie de la placa. Presionar ligeramente para que queden adheridos.
- Se debe procurar que queden suficientemente separados unos de otros para que la lectura de resultados sea clara y no haya interferencias.
- Incubar la placa por 18 a 24 horas en estufa a 36° C con atmósfera normal o incubar a 36°C con atmósfera de CO₂ al 5% según corresponda.
- Tras este tiempo, se leen los resultados **midiendo el diámetro** de los halos de inhibición del crecimiento que aparecen alrededor de los discos de papel.

Interpretación.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 105 de 127

- Se compara los resultados obtenidos con los valores entregados por CLSI. La medida del halo corresponderá a un resultado expresado como sensible, intermedio o resistente.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 106 de 127

Propósito

Realizar una correcta técnica de tinción de Gram que permita diferenciar las bacterias en Gram positivas y Gram negativas.

Materiales

- Portaobjetos
- Solución de cristal violeta
- Solución de Lugol
- Solución de Safranina
- Solución decolorante de alcohol-acetona.
- Cronómetro
- Lápiz mina


Proceso de tinción

- Identificar un portaobjetos con el N° correspondiente a la muestra.
- Colocar la muestra en el portaobjetos
- Fijar el frotis a temperatura ambiente, hasta que esté completamente seco
- Cubrir con la solución de cristal violeta por 1 minuto
- Eliminar el exceso de colorante y lavar con agua corriente
- Cubrir con la solución de lugol durante 1 minuto
- Lavar por arrastre con agua corriente
- Lavar con decolorante hasta que se desprenda todo el colorante remanente.
- Lavar con agua corriente.
- Cubrir con solución de safranina por 1 minuto
- Lavar con agua corriente
- Dejar secar a temperatura ambiente, idealmente sobre superficie inclinada. Además, se puede retirar el exceso de agua con papel absorbente, depositando la lámina de forma lateral sobre el papel, para que escurra por capilaridad.

Observación en el microscopio

- Colocar una gota de aceite de inmersión al frotis teñido.
- Observar primero con lente 10x para evaluar la cantidad de células epiteliales, en muestras del tracto respiratorio.
- Pasar al lente de inmersión 100x para observar cuidadosamente los elementos a informar.

Elementos a informar

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 107 de 127

- Polimorfonucleares
- Células epiteliales
- Bacterias
- Levaduras

Interpretación de la tinción

- Se debe informar como bacterias **Gram Positivas** aquellas que se tiñen de color **azul a violeta**.
- Se debe informar como bacterias **Gram Negativas** aquellas que se tiñen de color **fucsia a rojo**.
- Se debe informar la morfología bacteriana, si se trata de cocáceas, bacilos o cocobacilos.
- Se debe informar la agrupación bacteriana, si están dispuestas en cadenas racimos, diplo, tétradas, aisladas, etc.

Informe de los elementos

- El informe de cada elemento se reporta en cruces y se interpreta según la siguiente tabla.


Cantidad	Equivalencia en cruces	Equivalencia por campo
Abundante	+++	≥ 25 por campo
Regular cantidad	++	11 – 24 por campo
Escasa	+	< 10 por campo

Consideraciones de importancia


- En muestras del tracto respiratorio la tinción de Gram es de vital importancia para evaluar la **calidad de la muestra**; se considera como una buena muestra aquella en que se observan más de 25 PMN por campo y menos de 10 células epiteliales por campo. Aquellas muestras que presentan más de 25 células epiteliales por campo, menos de 10 PMN por campo y diferentes especies bacterianas se considera una mala muestra y no debe estudiarse.
- En muestras de secreción vaginal buscar células guía llamadas Clue cells, que son características de la presencia de *Gardnerella vaginalis*.

Plazo de entrega del informe

- Tinciones de Gram solicitadas urgentes y aquellas de LCR o Hemocultivos se procesan lo antes posible y se informan **de inmediato** por teléfono al médico tratante o enfermera, dejando registro de la hora y nombre de quien recibe el informe.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 108 de 127

- El resto de las tinciones de Gram se dejan registradas en sistema KernMic para luego realizar un preinforme en BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 109 de 127

ANEXO N°4: INSTRUCTIVO PARA LA PRUEBA DE CATALASA

Propósito

Realizar una correcta técnica, con la finalidad de demostrar la presencia de la enzima catalasa.


La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Al liberarse el oxígeno da como resultado la formación de burbujas.

Descripción de la actividad

- Se coloca una gota de H_2O_2 al 30% en la superficie de un portaobjeto.
- Con la punta del asa plástica estéril o con una pipeta Pasteur se agrega una colonia de la cepa en estudio.

Interpretación

- La producción de burbujas significa que la bacteria en estudio es catalasa positiva.
- La no producción de burbujas indica que la bacteria en estudio es catalasa negativa.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 110 de 127

ANEXO N°5: INSTRUCTIVO DE PROCESAMIENTO E INTERPRETACIÓN MICOLÓGICA

Las pautas utilizadas para el estudio microbiológico de las muestras en general, no siempre se ajustan a lo que se debe realizar en aquellas muestras en que se solicita búsqueda de hongos.

Probablemente las consideraciones más importantes para mejorar el diagnóstico de las infecciones fúngicas sean la adecuada toma de muestra, utilización de medios de recolección y transporte adecuados, obtención de datos pertinentes del paciente y comunicación expedita con los médicos tratantes para casos especiales.

Tipo de muestras clínicas:

- Hemocultivos (siempre que se visualice al Gram levaduras)
- Secreción uretral
- Secreción vaginal
- Líquido cefalorraquídeo (siempre que se solicite tinta china) y otros líquidos estériles
- Aspirado Endotraqueal
- Lavado broncoalveolar
- Tejidos cuantitativos de pacientes quemados

En el caso de muestras de orinas en las cuales se observen levaduras, se debe incluir siembra para hongos en una cuña en agar Sabouraud


Consideración:

- Todos los lunes de la semana se realiza la visualización de colonias en las placas.

Interpretación

Si hay crecimiento de hongo filamentosos:

- **Observación macroscópica de la colonia:** analizar característica de la colonia
- **Observación microscópica:**
 - En gabinete de bioseguridad, tomar un trozo de cinta adhesiva y presionar suavemente sobre la colonia, levantando una porción del micelio aéreo.
 - Montarlo en un portaobjetos con una gota de azul lactofenol
 - Examinar con objetivo de 40x

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 111 de 127


Si hay crecimiento en una muestra de Líquido cefalorraquídeo:

- Realizar la identificación por medio de VITEK MS prime.

Si hay crecimiento de levaduras en otras muestras:

- Realizar la identificación por medio de VITEK MS prime.

ANEXO N° 6: INSTRUCTIVO PARA EL EXAMEN DE TINTA CHINA

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 112 de 127

Propósito

Realizar una correcta técnica de la prueba de tinta china en LCR que permita observar la cápsula de *Cryptococcus neoformans*, sobre el fondo oscuro de una preparación con tinta china. Los polisacáridos capsulares rechazan la tinta china y la capsula aparece como un halo claro alrededor de los microorganismos.

Materiales

- 1 portaobjeto
- 1 cubreobjeto
- 1 pipeta pasteur
- 1 ampolla de tinta china


Procedimiento

- Centrifugar el líquido cefalorraquídeo a 2500 rpm. por 5 minutos.
- Sacar con pipeta Pasteur una gota del sedimento y colocar en un portaobjetos.
- Agregar una gota de tinta china.
- Cubrir con cubreobjetos.
- Observar al microscopio con objetivo 40x.
- Buscar la presencia de levaduras rodeadas de una aureola clara que corresponde a la cápsula de *Cryptococcus neoformans*.

Interpretación

- La presencia de aureola en las levaduras se informa como Tinta China positiva.
- La ausencia de aureola se informa como Tinta China negativa.

ANEXO N°7: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VIRTUO

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 113 de 127

Propósito

Planificar, estandarizar y registrar las acciones de limpieza y chequeo del equipo para garantizar su correcto funcionamiento de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Procedimiento

Registros

- Los registros de mantención diaria deben quedar anotados en la planilla de mantención del usuario (Anexo N° 8) y deben ser archivados en la carpeta correspondiente al equipo VIRTUO.

Mantención Diaria


Limpieza


- Esta mantención la debe hacer el Tecnólogo Médico .
- Hacer una limpieza prolija de la superficie exterior del equipo con un paño seco y libre de pelusas.

Control de la temperatura del equipo

- Se realiza de forma automática por parte del equipo.

ANEXO N°8: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO VIRTUO


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 114 de 127

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód: RG-ULC05-01
	SUB DIRECCION MEDICA	Versión: 3
	LABORATORIO CLINICO	Fecha: 00-2023
	REGISTRO MANTENCION USUARIO	Página: 1 de 1

REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPO VIRTUO

DIARIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Limpiar superficie																															
Registro de temperatura																															
Iniciales del responsable																															

ANEXO N°9: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VITEK 2 XL

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 115 de 127

Propósito

Planificar, estandarizar y registrar las acciones de limpieza y chequeo del equipo para garantizar su correcto funcionamiento de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Procedimiento

Registros

Los registros de mantención usuario deben quedar anotados en la Planilla de Mantención del Usuario (Anexo N° 10) y archivados en la carpeta correspondiente.

Mantención diaria

La debe hacer el Tecnólogo Médico que utilizará el equipo VITEK 2 XL antes de comenzar la rutina de trabajo diario, debe proceder a:

- **Limpiar superficie**

Hacer una limpieza prolija de toda la superficie exterior del equipo, con un paño humedecido eliminar cualquier polvo o suciedad de las superficies superior, frontal y lateral.


- **Limpiar recipiente de residuos**

Se debe abrir y retirar el recipiente (contenedor de tarjetas desechadas), vaciar las tarjetas a un contenedor de material contaminado y volver a colocarlo en la estación correspondiente.


Mantención mensual

Limpiar sistema óptico

- Acceder al menú de mantenimiento en equipo y seleccionar limpieza óptica.
- Confirmar acción para detener la lectura de tarjetas que pudiera estar en curso.
- Abrir las cubiertas superiores de los módulos A y B (desatornillar)
- El sistema óptico de transmitancia consta de un lector digital asegurado mediante un imán.
- Inspeccionar todas las superficies de cristal en busca de grietas o ralladuras. Notificar a Biomérieux cualquier desperfecto.
- Utilizar papel suave ligeramente humedecido con alcohol al 70%, limpiar todas las superficies del lector.
- Cerrar la cubierta de acceso superior para el usuario.
- Indicar al equipo que el proceso de limpieza ha finalizado.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 116 de 127

- Terminada la limpieza del sistema óptico el equipo mostrará un mensaje de la calibración del sistema optimo ha sido exitosa.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 117 de 127

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód: RG-ULC05-02
	SUB DIRECCION MÉDICA	Versión: 3
	LABORATORIO CLINICO	Fecha: 00-2023
	REGISTRO MANTENCIÓN USUARIO	Página: 1 de 1

REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPO VITEK XL

DIARIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Limpiar superficie																															
Eliminación de desechos																															
Calibración Densichek plus Standard 0.0 McF																															
Calibración Densichek plus Standard 0.5 McF																															
Calibración Densichek plus Standard 2.0 McF																															
Calibración Densichek plus Standard 3.0 McF																															
MENSUAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Limpieza óptica																															
Iniciales del responsable																															

ANEXO N°11: MODELO DE HOJA DE TRABAJO DE CARGA VITEK MS PRIME Y DE CARGA DE CASETE EQUIPO VITEK 2 XL

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 118 de 127

HOJA DE TRABAJO VITEK


FECHA PREPARACIÓN: _____ TM RESPONSABLE: _____

HOJA NÚMERO: _____				
1	2	3	4	5

6	7	8	9	10

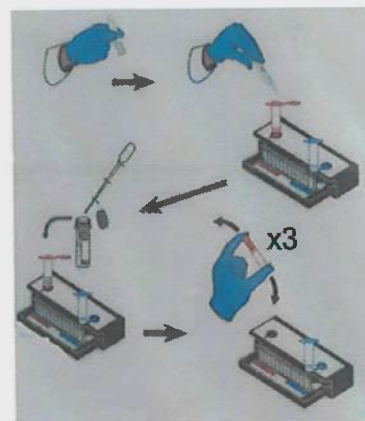
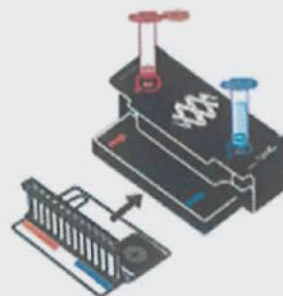
11	12	13	14	15


ANEXO N°12: INSTRUCTIVO DE CARGA EQUIPO FILMARRAY

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 119 de 127

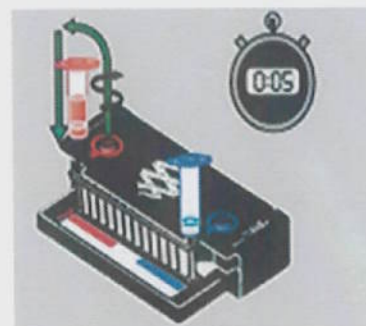
Procedimiento

- Ingresar y asignar a la muestra el número correlativo obtenido por sistema.
- Utilizar guantes.
- Limpiar cuidadosamente con cloro 0,5% la superficie del gabinete (cabina de bioseguridad) y la estación de carga del cartucho.
- Cambiarse los guantes.
- Extraer el cartucho de su envase sellado al vacío rasgando o cortando el envase exterior y abriendo el recipiente de aluminio protector.
- Insertar el cartucho en la estación de carga de cartuchos.
- Colocar el Vial de inyección de muestra en el pocillo rojo.
- Colocar el Vial de inyección de hidratación en el pocillo azul.
- Desenroscar la tapa del Vial de inyección de hidratación, dejar la tapa en la estación de carga de cartuchos.
- Insertar el Vial en el puerto de hidratación del cartucho.
- Empujar hacia abajo con fuerza hasta romper el sello y esperar hasta que la solución de hidratación se introduzca en el interior del cartucho.
- Incorporar el tampón para la muestra al Vial de inyección.
- Invertir la ampolla del tampón de manera que la punta mire hacia arriba.
- Apretar firmemente la lengüeta de plástico con relieve en el lateral de la ampolla hasta que se rompa el sello.
- Con la punta mirando hacia abajo, dispensar el tampón para muestra en el Vial de inyección de muestra apretando lentamente, pero con fuerza y, a continuación, volver a apretar.
- Evitar generar demasiadas burbujas.
- Realizar la carga de la muestra según el tipo de muestra a cargar:
 - **Panel Meningitis:** Utilizando la pipeta de transferencia, extraer la muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) hasta la segunda línea.




	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 120 de 127

- **Panel Respiratorio RP 2.1:** Utilizando la pipeta de transferencia, extraer la muestra del Medio de transporte Universal (MTU) hasta la tercera línea.
 - **Panel Sepsis:** Utilizando una jeringa, extraer 200 µL de muestra del frasco de hemocultivo.
 - **Panel Pneumonía:** Utilizando el Hisopo de muestra, agitar cuidadosamente la muestra de LBA o AET durante aproximadamente 10 segundos.
- Añadir la muestra al Vial de inyección de muestra y cerrar bien la tapa.
 - Mezclar la muestra invirtiendo suavemente el Vial de inyección de muestra, 3 veces.
 - Poner el Vial nuevamente en el pocillo rojo en la estación de carga de cartuchos.
 - Desenroscar el Vial de muestra de la tapa.
 - Esperar entre 3 a 5 segundos y, a continuación, quitar el Vial de inyección de muestra, dejando la tapa en la Estación de carga de cartuchos.
 - Insertar el Vial de inyección de muestra en el puerto de muestra del cartucho.
 - Empujar hacia abajo con fuerza hasta romper el sello y esperar hasta que la mezcla de muestra se introduzca en el interior del cartucho.
 - Seguir las instrucciones que se muestran en la pantalla del computador para iniciar una prueba.
 - Sonará un clic cuando el cartucho esté correctamente insertando en su sitio.



ANEXO N°13: MANTENIMIENTO EQUIPO FILMARRAY

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 121 de 127

De acuerdo a lo declarado por el proveedor, este equipo no requiere Mantención Preventiva. Sí se le debe realizar una mantención diaria y semanal :

Registros

Los registros de mantención usuario deben quedar anotados en la Planilla de Mantención del Usuario y archivados en la carpeta correspondiente (Anexo °14).


Mantención Diaria


- Utilice guantes
- Limpie la superficie externa del equipo y la cámara interior por debajo de la tapa, con paño de género con solución de cloro al 0,5 %. (No genere pelusas)
- La estación de carga del cartucho debe descontaminarse diariamente con toalla de papel y cloro al 0,5%. Posterior a esto, repetir la acción con agua destilada.

Mantención semanal:

- Utilice guantes
- Limpie con un cepillo de manera suave la superficie externa del ventilador, éste se encuentra en la parte posterior al lado del botón de encendido (No desarme el equipo)
- Utilice papel suave para limpiar el lente del lector de código de barra.
- Apague el equipo apretando el botón que se encuentra en la parte posterior del equipo.
- Apague el PC desde la pantalla principal, hacer doble click en ícono de Windows y seleccionar Shut down. Encender PC presionando botón de encendido en la cara frontal.
- Cámbiese los guantes.

ANEXO N°14: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPO FILMARRAY

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 122 de 127

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód: RG-ULC05-03
	SUB DIRECCION MEDICA	Versión: 3
	LABORATORIO CLINICO	Fecha: 11-2023
	REGISTRO MANTENCION USUARIO	Página: 1 de 1

REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPO FILMARRAY TORCH SERIE: TB02025

DIARIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Limpiar superficie externa del equipo																															
SEMANAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Limpiar filtros																															
Limpiar lector de código de barra																															
Iniciales del responsable																															


En caso de derrame de una muestra sobre la Estación de carga del cartucho

- Utilice guantes
- Llene un depósito con cloro al 0.5%
- Sumerja la estación de carga del cartucho hasta que quede totalmente cubierta con la solución de cloro. Manténgala sumergida durante 15 minutos.
- Saque la estación de carga del cartucho del depósito. Reemplace la solución de cloro por agua destilada.
- Repita la acción, sumergiéndola completamente otras dos veces.

En caso de fugas de reactivo de un cartucho.

- Utilice guantes. Asegúrese de que nadie utilice las zonas posiblemente contaminadas o los instrumentos hasta que finalice.
- Limpie la zona de trabajo y el instrumento y deseche el cartucho siguiendo estos pasos:
- Deseche el cartucho con fugas en el contenedor para residuos biológicos.
- Cámbiese los guantes.
- Limpie la zona de trabajo afectada y el instrumento siguiendo las pautas indicadas a continuación.

Cámara interior:

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 123 de 127


- Humedezca una toalla de papel con un cloro al 0.5 % y limpie la cámara interior y por debajo de la tapa. (Repetir 3 veces)
- Cámbiese los guantes.
- Humedezca una toalla de papel con agua destilada y limpie la cámara interior. (Repetir 2 veces)

Limpiar el exterior del instrumento.

- Utilice guantes.
- Humedezca una toalla de papel con alcohol al 0.5 % y limpie todas las superficies externas del instrumento, incluida la parte inferior y la superficie de la mesa de trabajo. (Repetir 3 veces)

Comprobación del funcionamiento del instrumento descontaminado

- Pruebe una muestra negativa preparando un cartucho utilizando sólo la ampolla hidratación, como muestra.
- Si la prueba es satisfactoria y todos los resultados son negativos, continúe utilizando el instrumento de manera normal.
- Si se obtienen resultados positivos imprevistos o falla la prueba, póngase en contacto con el Soporte técnico de BioFire Diagnostics, el representante comercial local de biomérieux, o con un distribuidor autorizado para obtener instrucciones.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 124 de 127

Propósito

Planificar, estandarizar y registrar las acciones de limpieza y chequeo del equipo para garantizar su correcto funcionamiento de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Procedimiento

Registros

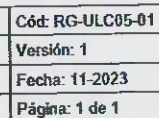
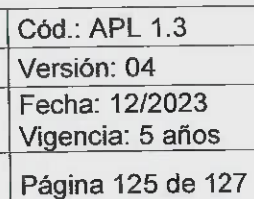
- Los registros de mantención diaria deben quedar anotados en la planilla de mantención del usuario (Anexo N°16) y deben ser archivados en la carpeta correspondiente a los equipos LIAT.

Mantención Semanal

Limpieza


- Esta mantención la debe hacer el usuario.
- Hacer una limpieza prolija de la superficie exterior del equipo con una toalla de papel humedecida con alcohol al 70%.

ANEXO N°16: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPOS LIAT



REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPOS LIAT SERIES: 15753 y 16984

[illegible]

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 126 de 127

ANEXO N°17: INSTRUCTIVO PARA MANTENCIÓN DEL EQUIPO VITEK MS

Propósito

Planificar, estandarizar y registrar las acciones de limpieza y chequeo del equipo para garantizar su correcto funcionamiento de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Procedimiento

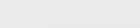
Registros

- Los registros de mantención diaria deben quedar anotados en la planilla de mantención del usuario (Anexo N°18) y deben ser archivados en la carpeta correspondiente al equipo VITEK MS.


Mantención Semanal

Limpieza

- Esta mantención la debe hacer el usuario.
- Hacer una limpieza prolija de la superficie exterior del equipo con un paño seco y libre de pelusas.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód.: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 04
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA	Página 127 de 127

ANEXO N°18: MODELO DE PLANILLA MANTENCIÓN EQUIPO VITEK MS

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Cód: RG-ULC-05-01
	SUB DIRECCION MEDICA	Versión: 1
	LABORATORIO CLINICO	Fecha: 11-2023
	REGISTRO MANTENCION USUARIO	Página: 1 de 1

REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPO VITEK MS

[illegible]