

Asesoría Jurídica

Mat.: Aprueba "*Protocolo de procedimientos de biología molecular*".

Resolución Exenta N° 002652 15-12-23

Santiago.

VISTOS, Lo dispuesto en:

1. El Decreto con Fuerza de Ley N° 1 de 2005, del Ministerio de Salud, que fijó el texto refundido, coordinado y sistematizado del Decreto Ley N° 2763 de 1979 y de las leyes N° 18.469 y N° 18.933;
2. El Decreto con Fuerza de Ley N° 1/19.653 de 2000, del Ministerio Secretaría General de la Presidencia, que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado de la Ley N° 18.575, Orgánica Constitucional de Bases Generales de la Administración del Estado.
3. El Decreto con Fuerza de Ley N° 29, de 2006, que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado de la Ley N° 18.834, sobre Estatuto Administrativo.
4. Los Decretos Supremos N° 140 y N° 38, de 2004 y 2005, respectivamente, ambos del Ministerio de Salud, sobre Reglamento Orgánico de los Establecimientos de Salud de Menor Complejidad y de los Establecimientos de Autogestión en Red.
5. La Resolución N° 7 de 2019 y N° 16 de 2020 de la Contraloría General de la República.
6. La Resolución Exenta RA 116675/419/2023, de 21 de agosto de 2023, del Servicio de Salud Metropolitano Central, que nombra en calidad de titular el cargo de Director del Hospital de Urgencia Asistencia Pública; y

CONSIDERANDO


- a) Que, la Biología Molecular se enfoca principalmente en el estudio de material genético ADN y ARN, lo que ha permitido explicar enfermedades congénitas y hereditarias además de identificar y tratar enfermedades infecciosas.
- b) Que, el Área Técnica de Biología Molecular del Laboratorio Clínico del Hospital de Urgencia Asistencia Pública tiene por objetivo el procesamiento de muestras clínicas para la detección de agentes infecciosos y así poder entregar resultados con una alta sensibilidad y especificidad.
- c) Que, en la actualidad el desarrollo constante de las técnicas moleculares ha permitido la implementación de técnicas eficaces y rápidas, transformándose en una herramienta clave para los equipos clínicos en la toma de decisiones, garantizando el diagnóstico y seguimiento terapéutico oportuno de los pacientes.
- d) Que, en este Protocolo se establece como objetivo específico:
 - i. Estandarizar y documentar los procedimientos y técnicas que se realizan en el Área de Biología Molecular.

ii. Entregar directrices para el procesamiento de muestras y los flujos de trabajo de las técnicas realizadas en el Área de Biología Molecular.

e) Que, de conformidad con lo anterior, en el ejercicio de lo dispuesto en el artículo 23 letra c) del Decreto Supremo N°38. De 2005, del Ministerio de Salud, que contiene el Reglamento Orgánico de los Establecimientos de Salud de Menor Complejidad y de los Establecimientos de Autogestión en Red, según el cual le corresponde al Director organizar internamente el Establecimiento Autogestionado y asignar las tareas correspondientes, con el fin de atender las necesidades públicas o colectivas de una manera regular, continua y permanente, como lo ordenan los artículos 3° y 28 de la Ley N°18.575, Orgánica Constitucional de Bases Generales de la Administración del Estado, y con la finalidad de establecer la *segunda versión* de él “Protocolo de procedimientos de biología molecular”, dicto la siguiente:

RESOLUCIÓN


I. APRUEBANSE la *segunda versión* de él “Protocolo de procedimientos de biología molecular” que es del siguiente tenor:

	PROTOCOLO DE PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR				
	CÓDIGO	VERSIÓN	FECHA	VIGENCIA	N° PÁGINAS
	APL 1.3	02	12/2023	5 años	92




PROTOCOLO DE PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Actualizado Por:	Revisado Por:	Aprobado Por:
 TM. Folio Baez R. Profesional de Laboratorio Clínico	 TM. Camila Valenzuela B. Encargada de Calidad Laboratorio Clínico	 Dr. Patricio Santa A. Director
 TM. Benjamin Pavez V. Profesional de Laboratorio Clínico	 TM. Camila Benítez U. Profesional Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente	
 TM. Jovanna Véliz C. Profesional de Laboratorio Clínico	 EU. Karla Alfaro F. Jefa Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente	
Fecha: Noviembre 2023	Fecha: Noviembre 2023	Fecha: Diciembre 2023


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 2 de 92

INDICE


I. INTRODUCCIÓN	6
II. OBJETIVOS	6
III. ALCANCE	6
IV. DEFINICIONES	7
V. RESPONSABLES DE LA EJECUCIÓN	9
VI. DESARROLLO DEL PROCESO	9
1. RECEPCIÓN DE MUESTRAS	9
1.1 RECEPCIÓN DE MUESTRAS HUAP	9
1.2 RECEPCIÓN DE MUESTRAS DERIVADAS DESDE OTROS CENTROS	10
2. FLUJO DE TRABAJO EN ÁREA TÉCNICA: BIOLOGÍA MOLECULAR	10
3. DETECCIÓN DE SARS- COV-2 POR TÉCNICA RT-PCR	11
3.1 TOMA DE MUESTRA	11
3.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	12
3.3 HORARIO DE RECEPCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	12
3.3.1 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS HUAP	12
3.3.2 HORARIO RECEPCIÓN DE MUESTRAS CESFAM	12
3.3.3 HORARIO RECEPCIÓN DE MUESTRAS DE CENTROS ASISTENCIALES DE URGENCIA	13
3.4 RECHAZO DE MUESTRAS	13
3.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO	13
3.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	14
3.6.1 INGRESO DE MUESTRAS EN SALA DE EXTRACCIÓN	14
3.6.2 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO MAELSTROM	15
3.6.3 PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS	15
3.6.4 PREPARACIÓN DE MASTER MIX Y CARGA DE ELUIDOS	16
3.6.5 AMPLIFICACIÓN DE RT-PCR EN TERMOCICLADOR REAL-TIME PCR CFX96TM DX	18
3.6.6 DESCARGA DE RESULTADOS CFX96TM MANAGER Y SEEGENE VIEWER	22
3.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.	26

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 3 de 92


3.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS	29
3.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA.....	30
3.10 REPORTE DIARIO EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA	30
3.11 FLUJOS DE TRABAJO PARA PROCESAMIENTO DE VARIANTES.....	31
3.11.1 DERIVACIÓN A ISP PARA SECUENCIACIÓN GENÓMICA.....	31
4. DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS SARS- COV-2, VRS, INFLUENZA TIPO A/B POR TÉCNICA RT-PCR (EQUIPO COBAS LIAT).....	32
4.1 TOMA DE MUESTRA	33
4.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	33
4.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	33
4.4 RECHAZO DE MUESTRAS.....	34
4.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO	34
4.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LA DETECCIÓN DE SARS- CoV-2, VRS E INFLUENZA TIPO A/B	37
4.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	38
4.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS	40
4.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA.....	40
5. TEST DE ANTÍGENOS SARS-COV-2	40
5.1 TOMA DE MUESTRA	41
5.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	41
5.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	41
5.4 RECHAZO DE MUESTRAS.....	41
5.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO	41
5.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS SARS-COV-2	42
5.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	43
5.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS	43
5.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA.....	43
6. DETECCIÓN DE VIRUS VIRUELA SÍMICA POR TÉCNICA QPCR.....	44
6.1 CRITERIO SOLICITUD DE MUESTRA.....	44

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 4 de 92

6.2 TOMA DE MUESTRA	44
6.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	45
6.4 HORARIO RECEPCIÓN MUESTRAS HUAP Y OTROS CENTROS ASISTENCIALES....	45
6.5 RECHAZO DE MUESTRAS.....	45
6.6 CONTROL DE CALIDAD INTERNO	46
6.7 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE VIRUELA SÍMICA.....	46
6.7.1 INGRESO DE MUESTRAS EN ÁREA TÉCNICA BIOLOGÍA MOLECULAR	46
6.7.2 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO MAELSTROM.....	47
6.7.3 PREPARACIÓN DE MASTER MIX Y CARGA DE ELUIDOS	48
6.7.4 AMPLIFICACIÓN DE RT-PCR EN TERMOCICLADOR REAL-TIME PCR CFX96TM DX	49
6.7.5 DESCARGA DE RESULTADOS FAST FINDER	51
6.8 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	53
6.9 VALIDACIÓN DE RESULTADOS	54
6.10 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA TOMA DE MUESTRA.....	55
6.11 DERIVACIÓN A ISP PARA SECUENCIACIÓN GENÓMICA.....	55
7. DETECCIÓN DEL COMPLEJO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS POR TÉCNICA QPCR.....	56
7.1 TOMA DE MUESTRA	56
7.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS	58
7.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	59
7.4 RECHAZO DE MUESTRAS.....	59
7.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO	59
7.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DEL COMPLEJO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS POR TÉCNICA qPCR.....	60
7.6.1 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO GENEXPERT DX.....	60
7.6.2 PROCESAMIENTO MANUAL.....	61
7.6.3 PROCESAMIENTO EQUIPO GENEXPERT DX.....	62
7.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	65

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 11/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 5 de 92

7.8. VALIDACIÓN DE RESULTADOS	68
7.9 REGISTRO Y ENVÍO DE RESULTADOS.....	68
7.10 DERIVACIÓN DE MUESTRAS AL HOSPITAL CLÍNICO SAN BORJA ARRIARÁN.....	69
8. CONSERVACIÓN DE MUESTRAS POST-ANÁLISIS Y ELIMINACIÓN DE DESECHOS...	70
9. MANTENIMIENTO DE USUARIO.....	70
9.1 MANTENIMIENTO MAELSTROM	70
9.2 MANTENIMIENTO TERMOCICLADOR CFX96™ BIORAD	71
9.3 MANTENIMIENTO COBAS LIAT	71
9.4 MANTENIMIENTO GENEXPERT DX.....	72
10. TIEMPOS DE RESPUESTA	73
VII. CONTINGENCIAS	73
VIII. DISTRIBUCIÓN	73
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
X. MODIFICACIONES DEL DOCUMENTO	75
XI. ANEXOS.....	76
ANEXO Nº1. FLUJO DE TRABAJO Y ENTREGA DE RESULTADOS	76
ANEXO Nº2. SOLICITUD DE EXÁMENES DEL AREA DE BIOLOGIA MOLECULAR.....	77
ANEXO Nº3. PLANILLA CONSOLIDADO	84
ANEXO Nº4. PLANILLA DILUCION 1:2 Y ALICUOTAS CONTROL (+) SARS-COV-2	85
ANEXO Nº5. PLANILLA REPORTE MINISTERIAL	86
ANEXO Nº6. MODELO REGISTRO MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO MAELSTROM 4800 - MAELSTROM 4810	87
ANEXO Nº7. MODELO REGISTRO MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO CFX96	88
ANEXO Nº8. MODELO REGISTRO MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO COBAS LIAT	89
ANEXO Nº9. MODELO REGISTRO MANTENCIÓN USUARIO EQUIPO GENEXPERT	90
ANEXO Nº10. REGISTRO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNO EQUIPO COBAS LIAT. .	91
ANEXO Nº11. REGISTRO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNO TEST DE ANTIGENOS SARS – COV-2.	92

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 6 de 92

I. INTRODUCCIÓN

La Biología Molecular se enfoca principalmente en el estudio de material genético ADN y ARN, lo que ha permitido explicar enfermedades congénitas y hereditarias además de identificar y tratar enfermedades infecciosas.

El Área Técnica de Biología Molecular del Laboratorio Clínico del Hospital de Urgencia de Asistencia Pública tiene por objetivo el procesamiento de muestras clínicas para la detección de agentes infecciosos y así poder entregar resultados con una alta sensibilidad y especificidad. En la actualidad el desarrollo constante de las técnicas moleculares ha permitido la implementación de técnicas eficaces y rápidas, transformándose en una herramienta clave para los equipos clínicos en la toma de decisiones, garantizando el diagnóstico y seguimiento terapéutico oportuno de los pacientes.

El presente protocolo constituye una guía de procedimientos destinados a quienes participan en las etapas pre-analítica, analítica y post-analítica.

II. OBJETIVOS

GENERAL


Estandarizar y documentar los procedimientos y técnicas que se realizan en el Área de Biología Molecular.

ESPECÍFICO

Entregar directrices para el procesamiento de muestras y los flujos de trabajo de las técnicas realizadas en el Área de Biología Molecular.


III. ALCANCE

Aplica a los profesionales y técnicos del Área Técnica de Biología Molecular del Laboratorio Clínico del HUAP, donde se procesan muestras para diagnóstico y tratamiento clínico.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 7 de 92


IV. DEFINICIONES

- **Antígeno:** Molécula de procedencia exógena o endógena que resulta extraña al organismo y que puede ser específicamente unida por un anticuerpo.
- **Área limpia:** Espacio físico libre de productos amplificados, templados de ADN y de muestras biológicas que pudieran contaminar futuras PCR. Corresponde al área de preparación de reactivos.
- **Área Sucia:** Espacio físico donde existe presencia y manipulación ADN-ARN y/o muestras biológicas. Comprende las áreas de extracción de material genético y área de amplificación.
- **BAC:** Búsqueda activa de casos.
- **BiosLis:** Sistema Informático de laboratorio.
- **(C):** Línea de control interno.
- **CCI:** Control de Calidad Interno.
- **Caso Sospechoso COVID-19:** Persona que cumple con criterios clínicos (fiebre, tos, debilidad general, cefalea, mialgia, dolor de garganta, disnea, anorexia/náuseas/vómitos o diarrea) o epidemiológicos (contacto de caso probable, confirmado o vinculado de COVID-19).
- **Caso Sospechoso Viruela Símica:** Persona de cualquier edad que presenta un exantema agudo sin otra explicación y que tenga uno o más de los siguientes signos o síntomas: cefalea, inicio súbito de fiebre ($>38,5^{\circ}\text{C}$), mialgia, dolor de espalda, astenia y linfadenopatía.
- **Ct:** Corresponde al número de ciclos de amplificación en el que la prueba PCR es capaz de identificar la presencia de la diana molecular investigada, de carácter semicuantitativo e inversamente proporcional a la cantidad de ADN o ARN de la muestra.
- **Eluido:** Ácido nucleico contenido en una solución acuosa libre de RNAsa extraído

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 8 de 92

desde tubo de muestra primaria.

- **EPP:** Elementos de protección personal.
- **Fluoróforo:** Molécula o parte de ella que emite fluorescencia luego de ser excitada con luz.
- **Formulario de Solicitud de Examen:** Documento normalizado que emite el profesional solicitante y es remitido al laboratorio para la realización de exámenes.
- **HCSBA:** Hospital Clínico San Borja Arriarán.
- **HUAP:** Hospital de Urgencia Asistencia Pública
- **IC:** Control interno.
- **ISP:** Instituto de Salud Pública.
- **Master Mix:** Preparación y mezcla de los componentes necesarios para que ocurra una reacción de PCR tales como: agua libre de nucleasas, tampón (buffer), Mg+2, dNTPs, partidores, sondas y enzima polimerasa termoestable (Taq polimerasa).
- **MAV:** Mutaciones Asociadas a Variantes.
- **MINSAL:** Ministerio de Salud.
- **MTB:** *Mycobacterium tuberculosis*.
- **Muestra:** Cantidad limitada de cualquier sustancia o material proveniente de un organismo como tejidos, células, ADN, ARN, proteínas o fluidos corporales (orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, etc).
- **PNTM:** Plataforma Nacional de Toma de Muestra, sistema de registro y validación de resultados ministerial.
- **PROCET:** Programa de Control y Eliminación de la Tuberculosis.
- **RT-PCR:** Técnica variante de la PCR convencional, la cual comprende una transcripción inversa, que a partir de ARN sintetiza ADNc, con el cual se realiza posteriormente la PCR correspondiente.
- **TBC:** Tuberculosis.
- **Termociclador:** Equipo que permite realizar los ciclos de temperaturas necesarios para la amplificación de diversas hebras de DNA o RNA en la técnica de la PCR.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 9 de 92

- **Tubo primario:** Corresponde al recipiente que contiene la muestra, el cual debe ser impermeable y hermético.
- **Variante:** Nueva cepa generada por la mutación de los virus en el tiempo.

V. RESPONSABLES DE LA EJECUCIÓN


- **Tecnólogo Médico de Biología Molecular:** Procesamiento de muestras clínicas, análisis y validación de resultados. Derivación de muestras a ISP y HCSBA. Coordinación y dar continuidad a los lineamientos instruidos por el MINSAL.
- **Técnico Paramédico Recepción de muestras:** Recepción, ingreso a sistema informático del laboratorio (BiosLis) y traslado de muestras al Área de Biología Molecular.

VI. DESARROLLO DEL PROCESO

1. RECEPCIÓN DE MUESTRAS

1.1 RECEPCIÓN DE MUESTRAS HUAP

- Técnico Paramédico de turno que se encuentra en recepción de muestras, debe ingresar las muestras que lleguen al sistema informático BiosLis, dirigirse al gabinete de bioseguridad que se encuentra dentro de la Sala de Extracción y corroborar el correcto rotulo de muestra con los datos del paciente. Avisar a Tecnólogo Médico del Área Técnica de Biología Molecular.
- El Tecnólogo Médico debe revisar que la información de Solicitud de examen esté completa. En el caso de solicitar exámenes de SARS- CoV-2 o Viruela Símica, también debe verificar su derivación en Plataforma de Toma de Muestra (PNTM) de MINSAL.
- Las muestras se deben almacenar transitoriamente en un refrigerador a 2-8°C, mientras estén en proceso para posteriormente, una vez finalizadas, ser deben guardadas en bolsas cerradas y rotuladas con la fecha del día de procesamiento en refrigerador -80°C.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 10 de 92


1.2 RECEPCIÓN DE MUESTRAS DERIVADAS DESDE OTROS CENTROS

- El centro asistencial que solicita el examen debe previamente coordinar el envío de la muestra con el Tecnólogo Médico de turno del área de Biología Molecular por vía telefónica y correo electrónico.
- Es requisito que se envíe un listado de las muestras derivadas y una copia del formulario de solicitud de examen. En el caso de solicitar exámenes de SARS- CoV-2 o Viruela Símica, estas además deben llegar previamente derivadas en la Plataforma Nacional de Toma de Muestras (PNTM) hacia el HUAP.
- El Tecnólogo Médico recibe el cooler de muestras derivadas, verifica que se cumplan las condiciones de transporte y que todos los datos solicitados en el formulario de solicitud de examen estén completos.
- El Técnico Paramédico de turno en recepción ingresa las muestras a BiosLis.
- Ordenar y enumerar muestras recepcionadas, rotulándolas con el número correspondiente y corroborando que coincidan con el listado adjunto al envío.

2. FLUJO DE TRABAJO EN ÁREA TÉCNICA: BIOLOGÍA MOLECULAR

El área de Biología Molecular se divide en 3 salas de trabajo, cada una de ellas cuenta con equipamiento y materiales independientes y exclusivos, que no se comparten entre ellas. Cada vez que se ingrese a una sala de trabajo diferente se debe utilizar guantes nuevos, delantal exclusivo y usar sólo los implementos disponibles en esa sala (Anexo N°1).

- **Sala Extracción:** Sala de recepción y procesamiento de muestras (extracción de ácidos nucleicos).
- **Sala Amplificación:** Sala de preparación de reactivos, dispensación de eluidos y amplificación en termocicladores.
- **Sala Administrativa:** Sala de trabajo administrativo. Se realiza el análisis y la validación de los resultados obtenidos en el sistema informático BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 11 de 92

3. DETECCIÓN DE SARS- CoV-2 POR TÉCNICA RT-PCR


La técnica de diagnóstico molecular de RT-PCR en tiempo real fue declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como el “*gold standard*” para la detección de SARS-CoV-2 desde muestras respiratorias. Esta se basa en la retrotranscripción (RT) que permite la conversión del material genético viral (RNA) en cDNA (DNA complementario). De esta forma, el cDNA viral puede ser reconocido por moléculas (*primers*) que se unen a genes específicos de componentes virales para detectar su presencia.

Actualmente los genes que se utilizan en la técnica de RT-PCR son RdRP (RNA polimerasa dependiente de RNA), S (Glicoproteína de superficie *spike*), E (proteína pequeña de envoltura), M (proteína de matriz) y N (proteína de la nucleocápside). Posterior al reconocimiento de estos genes, la reacción de PCR genera productos de amplificación que entregan una señal fluorescente la cual va aumentando en el tiempo y se puede monitorizar en tiempo real, lo que finalmente se traduce en la detección del virus SARS-CoV-2.

3.1 TOMA DE MUESTRA

Para iniciar la toma de muestra, previamente el médico debe solicitar el examen mediante la “Solicitud de exámenes de Laboratorio: PCR SARS-CoV-2.” (Anexo N° 2). Este documento debe contener toda la información que se solicita, la cual es responsabilidad del clínico y del encargado de toma de muestra completarla. Los datos solicitados incluyen: Identificación del paciente, procedencia de la muestra, médico solicitante, responsable de la toma de muestra, fecha y hora de la toma de muestra, número de ID y Epivigila.

Todas las muestras provenientes de HUAP deben ser enviadas por Kinesiólogos de la Unidad de Rehabilitación y Gestión Funcional, quienes verificarán el correcto llenado de las solicitudes de examen y envío de muestras al laboratorio (Ver en *Protocolo de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 12 de 92

3.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- Transportar la muestra (MTU con tórula) en bolsa plástica transparente y dentro de un contenedor con tapa, resistente a filtraciones y golpes (cooler) con unidad refrigerante.
- La estabilidad de la muestra es de 72 horas a 2-8 °C.

3.3 HORARIO DE RECEPCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

El horario de envío de muestras y el procesamiento de ellas se han establecido según procedencia de estas.

3.3.1 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS HUAP

Las muestras de pacientes del HUAP se procesan por tandas y con una hora de validación aproximada (Tabla 1). Si una muestra es recepcionada fuera de estos horarios, ésta será procesada en la siguiente tanda. En el caso de muestras urgentes o provenientes de pacientes que requieren ser trasladados, la muestra se procesa de forma inmediata, una vez recibida por el Tecnólogo Médico, previo aviso por vía telefónica o correo electrónico.


Los resultados estarán disponibles dentro de un periodo aproximado de 4 horas. En caso de que se requiera repetir una muestra, este periodo aumenta a 6 horas a partir del horario de recepción de la muestra.

Horario de procesamiento de PCR	Horario de validación de resultados
07:00 horas	11:00 horas
12:00 horas	16:00 horas
16:00 horas	20:00 horas
21:00 horas	01:00 horas
03:00 horas	07:00 horas

Tabla 1. Horarios de procesamiento y validación de resultados.

3.3.2 HORARIO RECEPCIÓN DE MUESTRAS CESFAM

El horario se define previa coordinación con jefatura del Laboratorio según contingencia.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 13 de 92

3.3.3 HORARIO RECEPCIÓN DE MUESTRAS DE CENTROS ASISTENCIALES DE URGENCIA

El horario es continuo, durante las 24 horas del día, en recepción del laboratorio clínico HUAP por el Tecnólogo Médico de turno, previa coordinación vía telefónica y correo electrónico con el área de Biología Molecular.

3.4 RECHAZO DE MUESTRAS

Ver Protocolo de Toma de muestras Laboratorio Clínico.

3.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El CCI para la detección de SARS-CoV-2 por técnica RT-PCR consiste en evaluar de manera sistemática los procesos, insumos, reactivos y equipamiento utilizados en la realización de la técnica.


Frecuencia: En cada tanda PCR SARS- CoV-2 que se realice se debe cargar un control negativo y un control positivo provistos en el kit. La carga de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 3.6.

Además de estos controles, el kit para la detección de SARS- CoV-2 cuenta con un control interno endógeno (IC) el cual es un gen que permite supervisar todo el proceso de la toma de muestra, extracción de ácido nucleico y verificación de posibles inhibiciones de PCR.

La interpretación y validación de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 3.7.

Requisito de calidad: Controles positivo deba tener auto interpretación positiva y control negativo con auto interpretación negativa.

Calibración: No requiere.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 14 de 92

3.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

3.6.1 INGRESO DE MUESTRAS EN SALA DE EXTRACCIÓN

El Profesional Tecnólogo Médico debe asignar una numeración interna de trabajo diario a cada muestra, para su manejo en fase analítica, desde el número 1 en adelante. Una vez cerrada la última tanda del día (21:00 horas) se reinicia la numeración interna de trabajo diario partiendo nuevamente desde 1. Además, se debe confeccionar diariamente la planilla Excel "Planilla_laboratorios_COVID_19" de uso interno, donde se registran los datos demográficos del paciente, el número de petición, procedencia y resultado de cada muestra que se procese durante el día (Anexo N° 3). Esta se encuentra en la carpeta compartida "Biología Molecular" – "PCR COVID" – "Planilla Consolidado Laboratorio BM". Finalizado el procesamiento de las muestras del día, la planilla debe ser enviada por correo electrónico a los siguientes destinatarios:

- altaasistida.huap@gmail.com
- daniela.herrerab@redsalud.gob.cl
- daniela.gutierrezm@redsalud.gob.cl
- funcionariospcrhuap@gmail.com
- francisca.arenasc@redsalud.gob.cl
- gestoreshuap@gmail.com
- gestioncamas.huap@redsalud.gob.cl
- ivan.hernandezf@redsalud.gob.cl
- leviachaban@gmail.com
- valentina.bucarey@redsalud.gob.cl
- vanessa.aguilera@redsalud.gob.cl
- yasna.molina@redsalud.gob.cl

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 15 de 92

3.6.2 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO MAELSTROM

Maelstrom es un equipo semiautomatizado de extracción de ácidos nucleicos, utiliza varillas magnéticas para recolectar y transferir perlas magnéticas de un pozo a otro y mezclar uniformemente la solución a través de puntas giratorias. En el transcurso del proceso de mezcla, el ácido nucleico puede ser adsorbido por perlas magnéticas, y después del proceso de lisis, lavado y elución se puede obtener ADN y ARN purificados.

Dentro del instrumento hay 3 módulos de extracción. El proceso puede ser realizado en cassettes individuales de tubos (Auto Tube) o en placas (Auto Plate) con capacidad de carga hasta 16 muestras (Figura 1). Ambos contienen los reactivos de extracción y las perlas magnéticas necesarias para la obtención de ARN o ADN purificado.

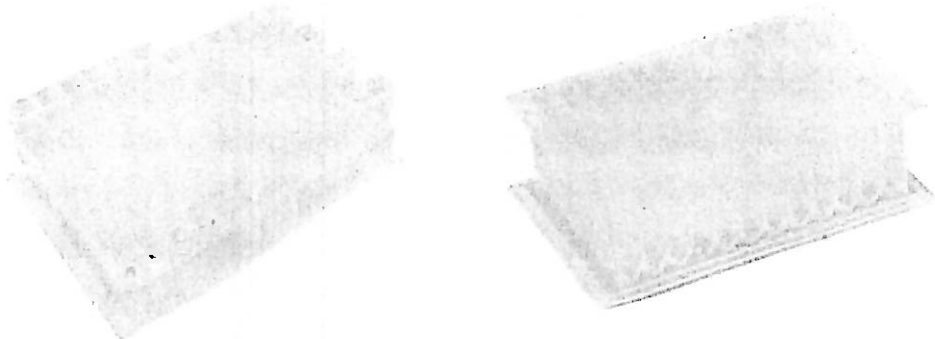



Figura 1. Cassettes Auto Tube (Izquierda) y Auto Plate (Derecha).

3.6.3 PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS


- En el gabinete de bioseguridad con flujo laminar nivel 2 (BSL2 Tipo II Clase A2), ubicado en Sala de Extracción, se agitan mediante un vórtex las muestras a procesar durante 15 segundos.
- Dispensar en el cassette 300 µl de muestra y 10 µl de proteinasa K en la posición 1 en el caso de las Auto Tube y en las posiciones 1 y 7 en el caso de las Auto Plate.
- Si el equipo MAELSTROM está apagado, se debe encender desde el interruptor que se encuentra en la parte posterior. El código de usuario predeterminado para iniciar sesión es 333. Este tarda entre 30-40 segundos en inicializar.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 16 de 92

- Posicionar el rack de puntas en el instrumento y presionar el icono de montaje para ejecutar. Una vez finalizado el montaje retirar el rack de puntas.
- Posicionar y empujar la Auto Placa y/o Auto Tube hasta el fondo de la rejilla para placas o tubos. Asegurarse que el chaflán de la placa de reactivos esté en la parte inferior izquierda y que la puerta del equipo quede correctamente cerrada al finalizar la carga.
- Seleccionar Run – Elegir Programa M48 665-Opti-1. Este programa tiene un tiempo de duración de 15 minutos.
- En la pantalla del equipo se debe presionar la opción Ejecutar - Ejecutar el Programa. Presionar "Sí" para comenzar.
- Una vez finalizado el proceso de extracción retirar el o los cassettes y dirigirse al gabinete de bioseguridad.
- Transferir los eluidos obtenidos (80µl aprox.) desde las posiciones 6 y 12 de la Auto Placa o Auto Tube desde la posición 6 a tubos eppendorf libres de RNAsa, previamente rotulados con el número de muestra correspondiente.
- Finalmente, descartar las placas o tubos usados y las puntas giratorias dentro de una bolsa cerrada y desechar en el contenedor de residuos especiales.

3.6.4 PREPARACIÓN DE MASTER MIX Y CARGA DE ELUIDOS

- Descongelar por 1 hora a 2-8° C los reactivos a utilizar que se encuentran en freezer de -20° C de la Sala de Amplificación para la preparación de Master Mix (Allplex™ SARS-CoV-2 o Allplex™ SARS-CoV-2 FAST).
- Realizar un vórtex y posterior centrifugación spin down a reactivos del Kits de PCR por 5-10 segundos aproximadamente.
- Calcular el volumen a preparar de Master Mix de acuerdo a la cantidad de muestras que conforman la tanda de procesamiento, dependiendo del kit a utilizar (Allplex™ SARS-CoV-2 o Master Mix Allplex™ SARS-CoV-2 FAST), considerando la totalidad de muestras junto con 2 controles (Positivo y Negativo):

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 17 de 92

a. Cálculo Master Mix Allplex™ SARS-CoV-2

5	μL	SARS2 MOM
5	μL	EM8
5	μL	RNase-free Water
15	μL	Volumen total de Master Mix

a.1 Cálculo Master Mix Allplex™ SARS-CoV-2 por pocillo de amplificación


15	μL	Master Mix
5	μL	Eluido de la muestra
20	μL	Volumen total de reacción

b. Cálculo Master Mix Allplex™ SARS-CoV-2 FAST

5	μL	SC2F MOM
5	μL	SEM XR2
5	μL	SEM XR2 Buffer
15	μL	Volumen total de MasterMix

b.1 Cálculo Master Mix Allplex™ SARS-CoV-2 FAST por pocillo de amplificación

15	μL	Master Mix
5	μL	Eluido de la muestra
20	μL	Volumen total de reacción

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 18 de 92


- Dirigirse a la cabina de flujo laminar de la Sala de Amplificación y preparar Master Mix en tubo eppendorf 1.5 mL según esquema anterior, rotulando su tapa como "MM". Se prepara solo un Master Mix por tanda de procesamiento.
- Dejar las tiras/tubos de PCR a utilizar en soporte correspondiente, rotulando en la aletilla superior su número correlativo.
- Dispensar 15 µL de Master Mix en cada pocillo y 5 µL de eluido.
- En el penúltimo pocillo dispensar 15 µL de Master Mix y 5 µL de RNase free water (Control Negativo).
- Para el último pocillo dispensar 15 µL de Master Mix y 5 µL de Control Positivo.
- Tapar las tiras/tubos de PCR con sus respectivas tapas.
- Realizar centrifugación spin down a tiras de PCR por 5-10 segundos aproximadamente.
- En caso de requerirlo se deberá diluir el Control Positivo que viene dentro del kit en una relación 1:2 de Control Positivo y RNase free water respectivamente. Dejar registro de esto en la planilla de "Alícuotas Control Positivo SARS-CoV-2" que se encuentra en la Sala de Amplificación (Anexo N° 4).

3.6.5 AMPLIFICACIÓN DE RT-PCR EN TERMOCICLADOR REAL-TIME PCR CFX96TM DX

El termociclador CFX96 es un sistema de detección de PCR en tiempo real de seis canales con un control de temperatura preciso que brinda una detección sensible de fluoróforos para una reacción o multiplex (Figura 2).



Figura 2. Vista frontal e interna del sistema CFX96.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGIA MOLECULAR	Página: 19 de 92

- Dirigirse a computador de termocicladores ubicados en la Sala de Amplificación, en el escritorio seleccionar icono de programa Bio Rad CFX Dx.
- Seleccionar en opción File > Open > Protocol desplegándose la ventana de Open Protocol.
- Seleccionar carpeta de Allplex Setting donde se encuentran los protocolos de perfil térmico utilizados (Figura 3). Para la amplificación del Kit Allplex™ SARS-CoV-2 elegir el perfil Allplex SARSCOV 2 setting ciclos. En el caso del Kit Allplex™ SARS-CoV-2 FAST elegir el perfil Allplex FAST.

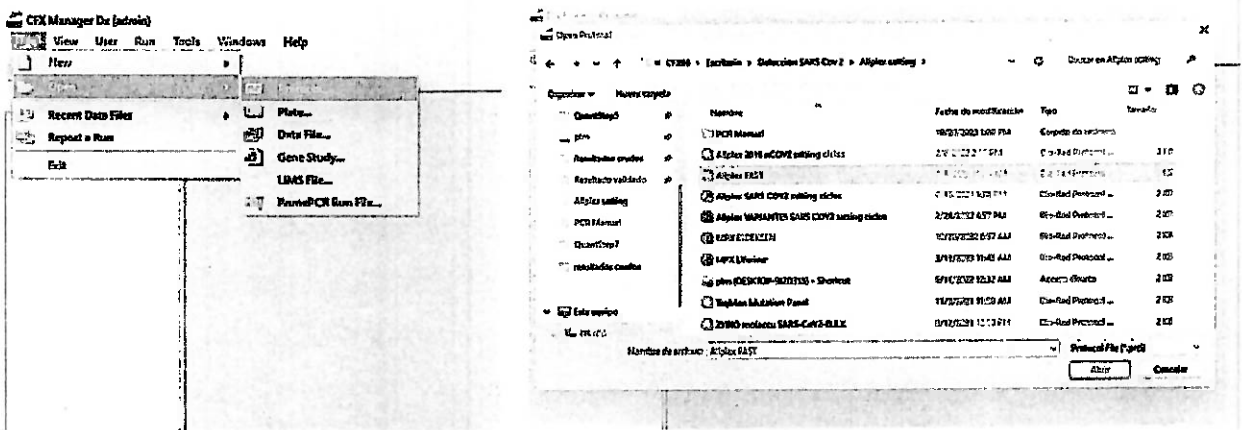
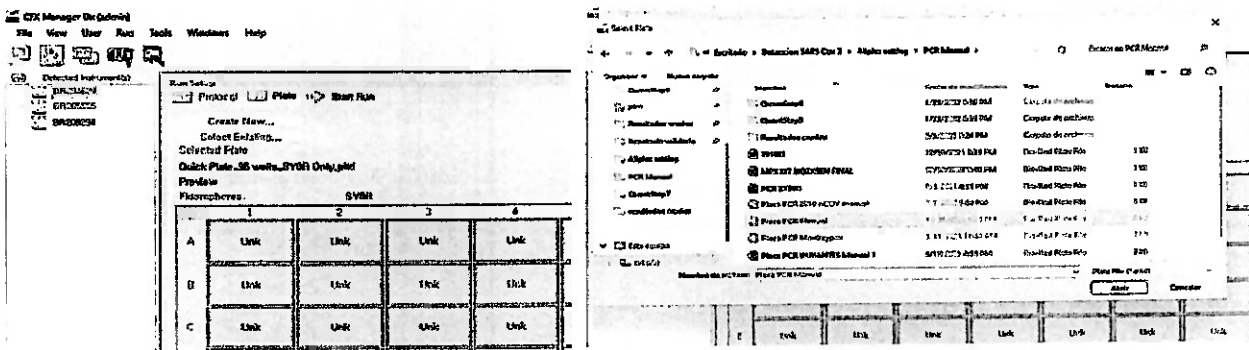



Figura 3. Ventana de selección protocolo de perfil térmico.

- Configurar el molde de placa seleccionando la opción Plate > Select Existing > Carpeta PCR Manual > Molde Placa PCR Manual (misma opción para ambos Kit) > Edit Select (Figura 4).



	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGIA MOLECULAR	Página: 20 de 92

- Verificar que cada molde se encuentre con todos los canales de fluoróforos seleccionados FAM, HEX, CAL Red 610 y Quasar 670 (Figura 5).

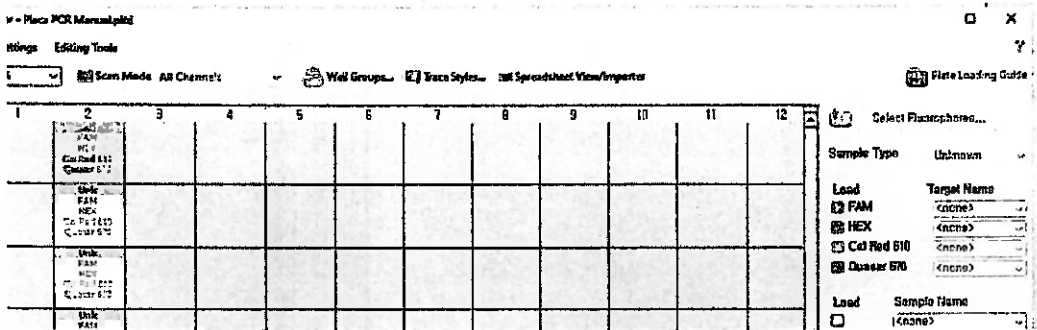


Figura 4. Ventana de selección de molde.



Figura 5. Selección de fluoróforos.

- Escoger termociclador a utilizar en la columna de Block Name y luego seleccionar opción de OPEN LID, esto hará que se abra el termociclador (Figura 6).

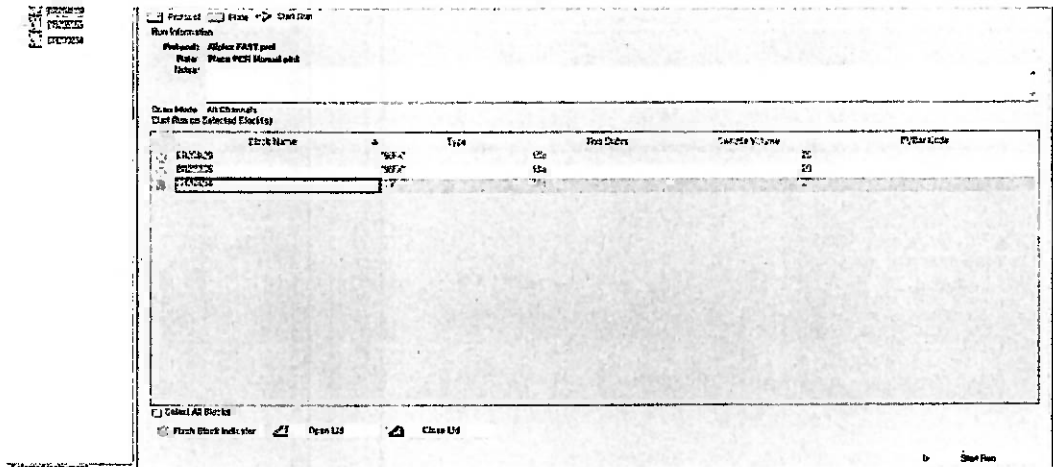



Figura 6. Ventana selección de termociclador

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 21 de 92

- Cargar tiras de PCR, completando siempre con al menos 2 tiras de contrapeso vacías (Figura 7).

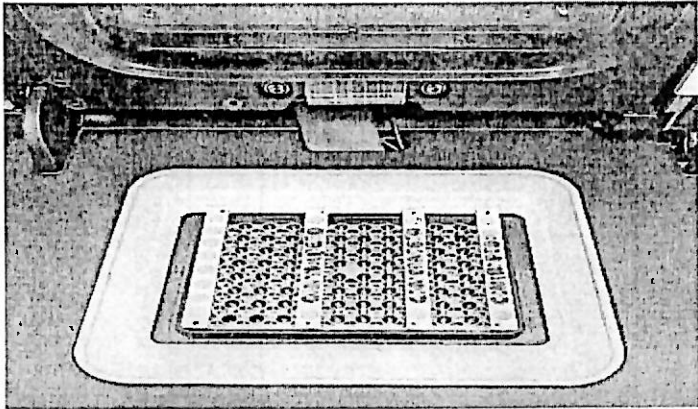


Figura 7. Carga de tiras PCR contrapeso.

- Seleccionar CLOSE LID para cerrar tapa y presionar "Start Run" (Figura 8).

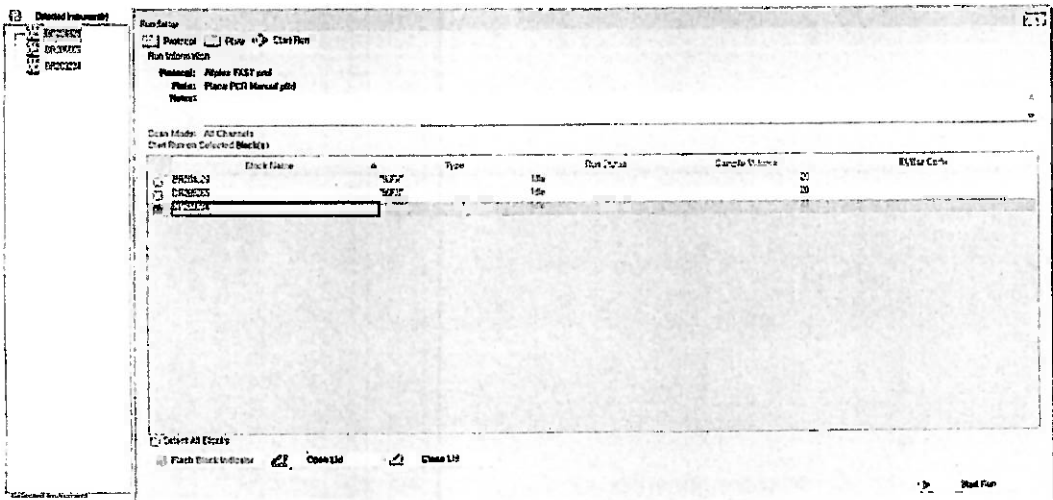



Figura 8. Ventana cerrar tapa de termociclador y comienzo de RT-PCR.

- Seleccionar la carpeta "Detección Sars Cov 2" que se encuentra en el Escritorio.
- Guardar en "Resultados Crudos" copiar el formato de archivos previos y editar la fecha de procesamiento.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 22 de 92

- Guardar archivo para así iniciar la corrida de amplificación.
- El proceso de amplificación tiene una duración de 1 hora y 50 minutos para el kit Allplex™ SARS-CoV-2 y de 52 minutos para el kit Allplex™ SARS-CoV-2 FAST.

3.6.6 DESCARGA DE RESULTADOS CFX96™ MANAGER Y SEEGENE VIEWER

Los datos son analizados mediante el software Seegene Viewer que permite el análisis de los datos de la corrida de PCR en tiempo real. Esta información será almacenada con el formato proveniente del termociclador y también descargada en formato Excel.

- Seguir los siguientes pasos en CFX Manager, desde el cuadro de curvas de resultados Seleccionar Settings > Baseline Settings > No Baseline Subtraction (Figura 9).

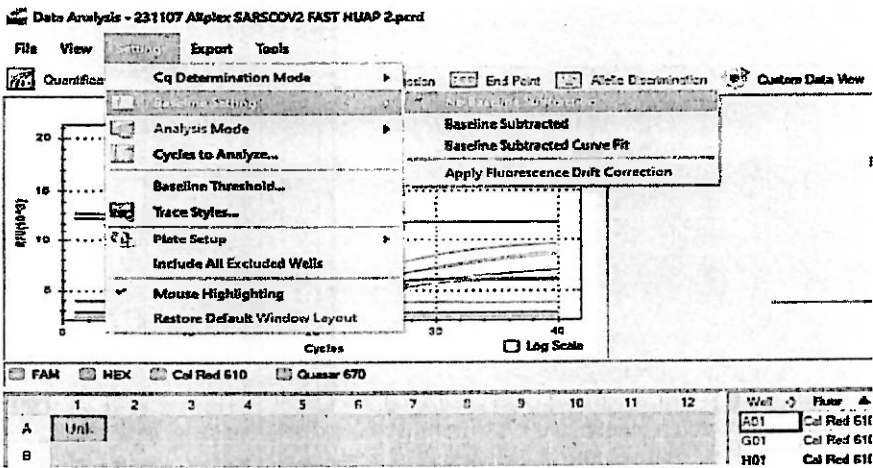



Figura 9. Selección opción No Baseline Subtraction.

- Seleccionar la opción Export > Seegene Export (Figura 10).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 23 de 92

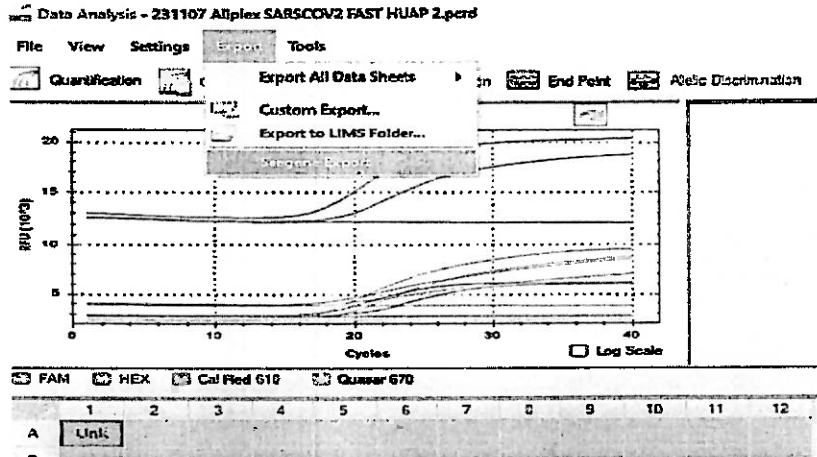


Figura 10. Exportar datos a Seegene Viewer.

- Seleccionar la carpeta “Detección Sars Cov 2”, automáticamente se generan archivos en las carpetas Quantstep7 (Figura 11).

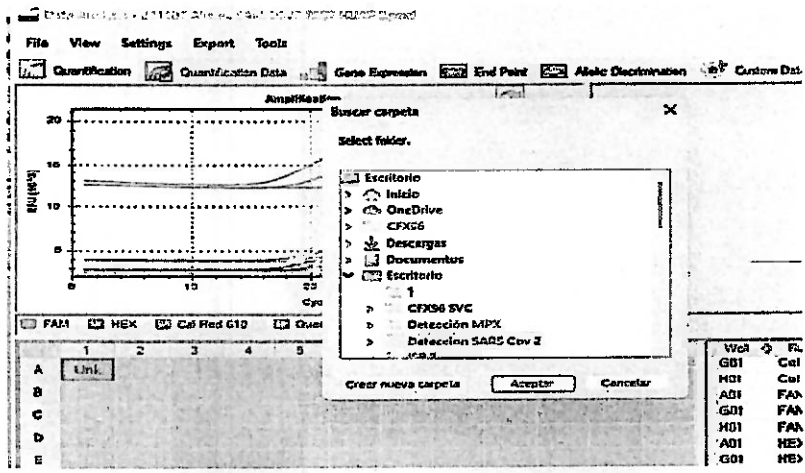



Figura 11. Selección carpeta “Detección Sars Cov 2”

- Abrir desde el escritorio el programa Seegene Viewer.
- Seleccionar Icono Carpeta, en la cual por defecto aparecerá abierta la carpeta Quantstep7 y abrir el archivo previamente exportado desde CFX manager (Figura 12).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 24 de 92

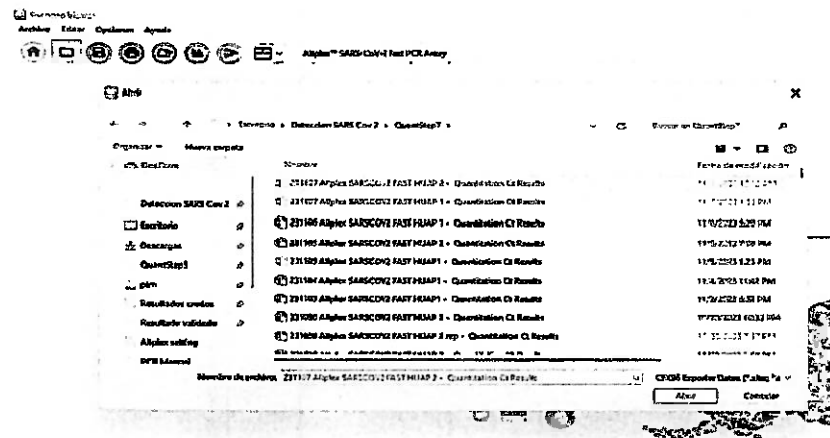


Figura 12. Selección de archivo previamente exportado.

- Seleccionar todas las muestras desde well plate e información de pocillo. Luego aplicar el kit utilizado (Figura 13).

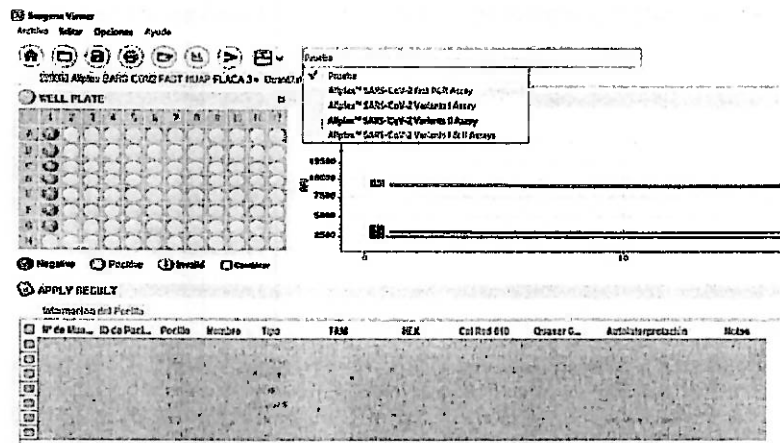



Figura 13. Selección de muestras y kit utilizado.

- Analizar que todos los datos y curvas concuerden.
- En el apartado Nombre en Seegene viewer, escanear el código de barra de etiqueta de la hoja de solicitud de examen (Figura 14).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 25 de 92

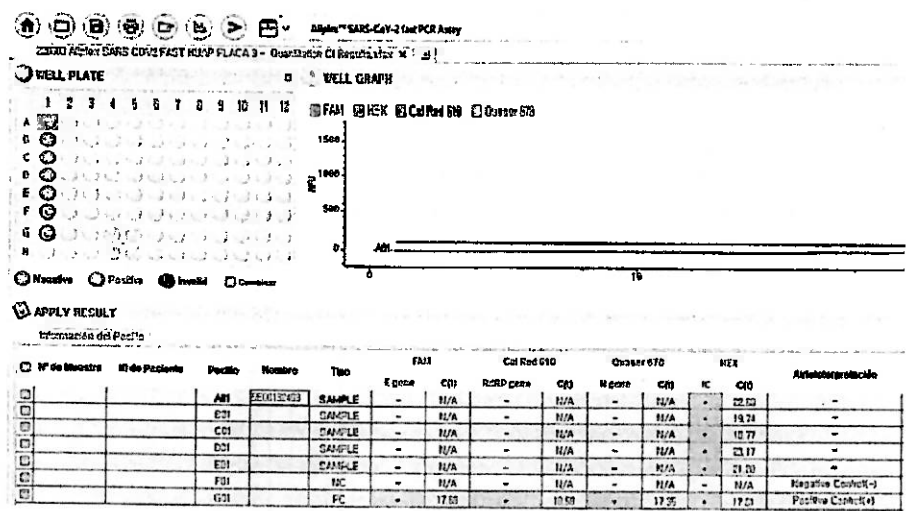


Figura 14. Escaneo de códigos de barra.

- Seleccionar icono HL7 para enviar los resultados al BiosLis (Figura 15).

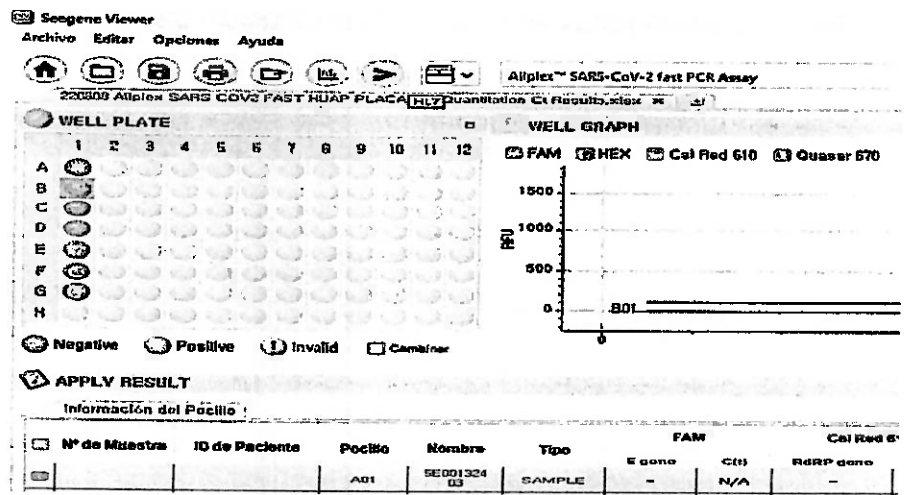



Figura 15. Transmisión de resultados a BiosLis.

- Abrir Icono Flecha Exportar, para generar archivo Excel y seleccionar Carpeta "Detección Sars Cov 2".
- Guardar archivo en carpeta "Resultado Validado" y copiar el formato de nombre de

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 26 de 92

archivos previos y editar la fecha, Guardar (Figura 16).

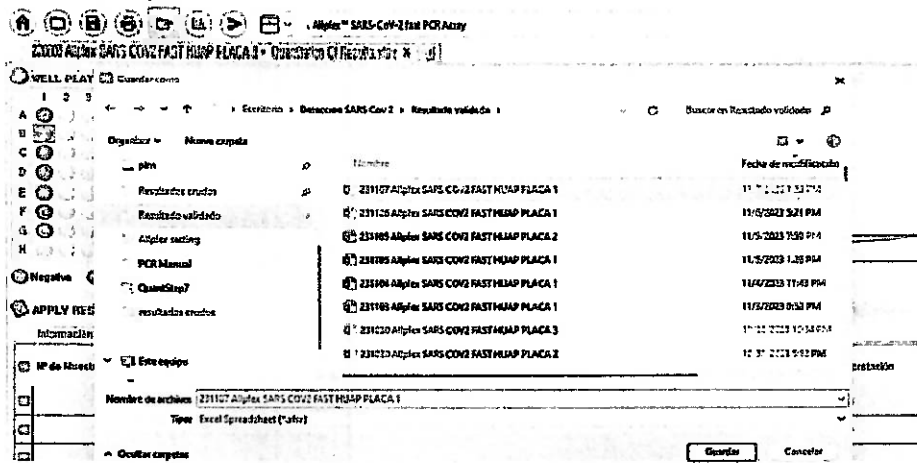



Figura 16. Archivo Excel de resultados.

- Enviar por Drive de la sección de Biología Molecular (biologiamolecular.huap@gmail.com), en la carpeta “PCR SarsCoV2” los resultados de la placa.

3.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

Algoritmos para análisis de resultados Allplex™ SARS-CoV-2 o Allplex™ SARS-CoV-2 FAST

- **Criterios de validez de los resultados de control Positivo y Negativo**
Para confirmar la validez de los resultados, las ejecuciones de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y CN (control negativo). Se determina que la ejecución del ensayo es válida cuando se cumplen todos los criterios siguientes:


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 27 de 92

Control	Resultado Seegene Viewer				
	FAM (Ct)	Cal Red 610 (Ct)	Quasar 670 (Ct)	HEX (Ct)	Auto Interpretación
	Gen E	Gen RdRP	Gen N	IC	
Positivo	10 ≤ Ct ≤ 23	10 ≤ Ct ≤ 23	10 ≤ Ct ≤ 23	10 ≤ Ct ≤ 23	Control Positivo (+)
Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	Control Negativo (-)

En caso de fallo de la validez, los resultados no deben interpretarse ni deben informarse. Además de repetir la reacción de PCR.


- Interpretación Ct de genes

Analito	Target			
	Gen E	Gen RdRP	Gen N	IC
Detectado (+)	≤ 38	≤ 38	≤ 38	≤ 35
No Detectado (-)	> 38 o N/A	> 38 o N/A	> 38 o N/A	> 35 o N/A

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGIA MOLECULAR	Página: 28 de 92

• Interpretación de resultados

Resultado objetivo			Resultado IC	interpretación automática	Descripción
Gen E	Gen RdRP	Gen N			
+	+	+	+/-	SARS-Cov-2	Todos los resultados objetivos fueron validados. Se detecta el resultado de ARN SARS-Cov-2.
+	-	+	+/-		Todos los resultados objetivos fueron validados. Se detecta el resultado de ARN SARS-Cov-2. Los resultados negativos son indicativos de: <ul style="list-style-type: none"> • Una muestra con concentración cercana o inferior al límite de detección de la prueba. • Una mutación en la región objetivo correspondiente. • Otros factores.
-	+	+	+/-		
+	+	-	+/-		
-	+	-	+/-		
-	-	+	+/-		
+	-	-	+/-	SARS-Cov-2 Presunto positivo	Todos los resultados objetivos fueron válidos. Se detecta el resultado de RNA de Sarbecovirus. El resultado de RNA de SARS-CoV-2 es presuntamente positivo. Los resultados objetivos negativos son indicativos de: <ul style="list-style-type: none"> • Una muestra con concentraciones cercanas o inferiores al límite de detección de la prueba. • Una mutación en la región objetivo correspondiente.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 29 de 92

					<ul style="list-style-type: none"> Otros factores. <p>Se debe repetir la prueba con más ácido nucleico. En el caso de las muestras que obtengan el mismo resultado en la repetición de la prueba, se pueden realizar pruebas adicionales de confirmación, si es necesario diferenciar entre el SARS-CoV-2 y otros Sarbecovirus que actualmente se desconozca que infectan al ser humano, con fines epidemiológicos o de gestión clínica.</p>
-	-	-	+	No detectado	Todos los resultados objetivos fueron válidos. No se detecta el resultado de RNA de SARS-CoV-2.
-	-	-	-	No válido	Los resultados indican una recolección de muestras o procesos inadecuados, o la presencia de inhibidores de PCR. Repetir la prueba desde la extracción de ácido nucleico desde la muestra original. Si el resultado es el mismo, solicitar nueva muestra.

Es importante tener en consideración de que un nivel elevado de ácidos nucleicos objetivo puede causar interferencia en la detección y la lectura del control interno. Una señal de control interno no válida (-) no indica que los resultados positivos de los objetivos no son válidos.

3.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos que se transmiten desde el programa Seegene Viewer, se validan desde el sistema informático del laboratorio BiosLis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 30 de 92

3.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA

Para el ingreso de resultados a la plataforma nacional de toma de muestra se debe acceder al siguiente link: <https://tomademuestras.minsal.cl/>, desde ahí se procede a:

- Seleccionar COVID 19.
- Hacer click en la pestaña PCR > Muestras > En proceso.
- Recepcionar las muestras en proceso que se encuentran derivadas hacia H.U.A.P.
- Descargar la planilla de trabajo en Reportes en PCR Global de solicitudes.
- Seleccionar la fecha correspondiente y descargar la planilla "Registro Global de Solicitudes > En proceso".


Para subir los resultados a la Plataforma Nacional de Toma de Muestra:

- Hacer click en Cargas Masivas > Resultados.
- Hacer click en Descargar Data Actual y completar los resultados en archivo Excel descargado.
- En la misma ventana > Choose file (seleccionar archivo correspondiente) y Subir el archivo.

3.10 REPORTE DIARIO EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA

Para realizar el reporte diario de los resultados a la Plataforma Nacional de Toma de Muestra desde las 00:00 horas del día siguiente:

- Hacer click en Reportes > PCR
- Hacer click en Reporte Ministerial y completar la fecha del día del reporte en cuadro solicitado > Analizar > Reporte Ministerial
- Se debe confeccionar diariamente la planilla Excel "RT-XX-XX-XXXX LAB_HOSP_HUAP" con los datos obtenidos del Excel descargado anteriormente, donde se registran los datos del número de muestras procesadas del día, numero de positivos del día y el acumulado de los exámenes procesados junto el acumulado de los resultados

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 31 de 92

positivos en el H.U.A.P (Anexo N°5). Esta se encuentra en la carpeta compartida "Biología Molecular" – "PCR COVID" – "Planilla anexo 2 BM", la clave de ingreso es *minsal2021*.


- El Excel descargado anteriormente se debe guardar en la carpeta compartida "Biología Molecular" – "PCR COVID" – "Reporte ministerial" con el nombre de "PNTM XX-XX-XXX LAB_HOSP_HUAP".
- Las planillas deben ser enviada por correo electrónico a los siguientes destinatarios antes de las 10:00 horas:
 - reportes.covid@minsal.cl
 - notificacionescovid@minsal.cl
 - covid19@minsal.cl
 - daniela.gutierrezm@redsalud.gob.cl
 - daniela.herrerab@redsalud.gob.cl

3.11 FLUJOS DE TRABAJO PARA PROCESAMIENTO DE VARIANTES

De acuerdo con el ordinario N° 1839 de MINSAL que habla sobre las estrategias para la vigilancia genómica de SARS-CoV-2 (COVID-19), a través del programa de Vigilancia Genómica, indica que a partir del primero de mayo de 2023 se descontinúan los análisis de MAV en los establecimientos de salud, y que las muestras que cumplan los criterios se derivan al ISP para su secuencia genómica.

3.11.1 DERIVACIÓN A ISP PARA SECUENCIACIÓN GENÓMICA

- Las muestras H.U.A.P que cumplan con los requisitos para secuenciación genómica (Ct<25 y máximo 3 días desde la fecha de toma de muestra) se debe llenar Formulario online: <https://formularios.ispch.gob.cl/>, Ingresar como usuario: HAPUBLIC - Formularios y seleccionar "V8-Notificación IRA Grave y 2019-nCoV".
- En la ventana desplegada ingresar todos los datos personales solicitados: Nombre, RUT, dirección, teléfono, Epivigila, fecha de toma de muestra, hora de toma de muestras y en

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 32 de 92


sección "Virus detectado localmente" seleccionar RT-PCR y en Otro completar con "SARS COV 2 CT XX,XX" (Ct de Gen N) y ENVIAR.

- Volver a HOME y seleccionar icono de documento PDF, imprimir 2 copias del formulario, de las cuales una se debe archivar en carpeta de "FORMULARIOS ISP" que se encuentra en la Sala Administrativa, mientras que otra se debe enviar junto a la muestra a derivar.
- Descargar formulario de cada muestra a carpeta de "MUESTRAS ENVIADAS A ISP", luego en la carpeta con fecha del día en que se derivarán las muestras.
- El día de la derivación, enviar previamente por correo formularios a cmedina@ispch.cl con copia a daniela.herrerab@redsalud.gob.cl; daniela.gutierrezm@redsalud.gob.cl; laboratorio.bmhuap@redsalud.gob.cl
- Todas las muestras que se deriven deben ser registradas en el libro de derivados del Área de Biología Molecular, indicando la fecha de procesamiento, el número de petición, el tipo de muestra, y la fecha de entrega. Finalmente, la muestra deberá ser entregada al Tecnólogo Médico encargado de derivados, de lunes a viernes antes de las 09:00 horas, mediante triple embalaje y junto con una copia del formulario.

4. DETECCIÓN DE VIRUS RESPIRATORIOS SARS- CoV-2, VRS, INFLUENZA TIPO A/B POR TÉCNICA RT-PCR (EQUIPO COBAS LIAT)

El equipo Cobas LIAT, es un equipo automatizado que realiza RT-qPCR para detección cualitativa y simultánea de RNA de virus infecciosos. Está presentado en dos kits de reacción distintos, INFLUENZA A/B - SARS- CoV-2 y/o INFLUENZA A/B - VRS, a partir de muestras de hisopado nasofaríngeo, con un tiempo de procesamiento aproximado de 20 minutos.

Este equipo realiza los pasos de purificación de las muestras, amplificación de los ácidos nucleicos y detección de la secuencia objetivo. El sistema requiere el uso de un tubo de ensayo Cobas desechable, de uso único, el cual contiene todos los reactivos para la preparación de la muestra, la extracción, purificación, y amplificación de las secuencias objetivo.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 33 de 92

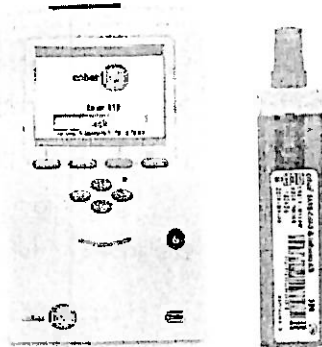


Figura 17. Vista frontal de Cobas LIAT (Izquierda) y Cartucho de reacción (Derecha).

4.1 TOMA DE MUESTRA

Ver en *Protocolo de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.


Para iniciar la toma de muestra, previamente el médico debe solicitar el examen mediante la "Solicitud de exámenes de Laboratorio: PCR INFLUENZA A/B - SARS- CoV-2 y/o PCR INFLUENZA A/B - VRS." (Anexo N°2). Este documento debe contener toda la información que se solicita, la cual es responsabilidad del clínico y del encargado de toma de muestra completarla. Los datos solicitados incluyen: Identificación del paciente, procedencia de la muestra, médico solicitante, responsable de la toma de muestra, fecha y hora de la toma de muestra. En el caso de solicitud de examen de laboratorio PCR INFLUENZA A/B - SARS- CoV-2 debe incluir el número de ID y Epivigila.

4.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- Transportar la muestra (MTU con tórula) en bolsa plástica transparente y dentro de un contenedor con tapa, resistente a filtraciones y golpes (cooler) con unidad refrigerante.
- La estabilidad de la muestra es de 72 horas a 2-8 °C.

4.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS

El horario es durante las 24 horas del día en recepción del laboratorio clínico HUAP por el

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 34 de 92

Técnico Paramédico de turno en recepción de muestras.

4.4 RECHAZO DE MUESTRAS

- Ver Protocolo de Toma de muestra de Laboratorio Clínico.

4.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El CCI para la detección de virus respiratorios SARS- CoV-2, VRS, INFLUENZA TIPO A/B en el equipo COBAS LIAT consta de un control de proceso interno en cada ensayo y su función es verificar el procesamiento adecuado de la muestra biológica. Este control se supera cuando la purificación de la muestra y la amplificación del fragmento objetivo cumplen los criterios de aceptación validados.


También se realiza un control de calidad externo al kit de reacción.

Frecuencia: Cada vez que llegue un nuevo lote de kit de reactivos, mediante la carga de un control negativo y un control positivo provistos en el “quality control kit”.

Requisito de calidad: Control positivo debe dar resultado positivo y control negativo debe dar resultado negativo.

Calibración: No requiere.

Cada técnica ya sea INFLUENZA A/B - SARS- CoV-2 o INFLUENZA A/B – VRS cuenta con su propio kit de controles. El kit contiene reactivos control, pipetas de transferencia y una tarjeta con los respectivos códigos de barra de cada control (Figura 18 y 19).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 35 de 92

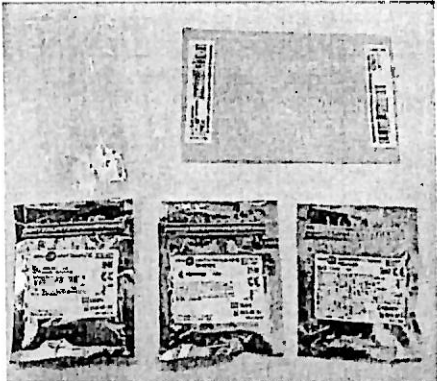


Figura 18. Kit control INFLUENZA A/B - SARS- CoV-2.



Figura 19. Kit control INFLUENZA A/B – VRS.

Como paso previo a la validación de un nuevo lote se debe reconstituir el control positivo de la técnica a controlar. En el caso de Influenza A/B – SARS- CoV-2, se debe reconstituir el control positivo de SARS – Cov-2 (lío­filizado) con el contenido total del control positivo de Influenza A/B. (Figura 20). Para Influenza A/B – VRS se debe reconstituir el control positivo Influenza A/B – VRS (lío­filizado) con el contenido total de un tubo de control negativo NEG BUF. (Figura 21).

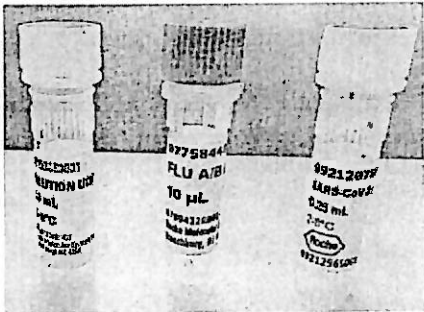



Figura 20. Control negativo Dilution UTM (izquierda), control positivo Influenza A/B (centro) y control positivo SARS- Cov-2 (derecha).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 36 de 92

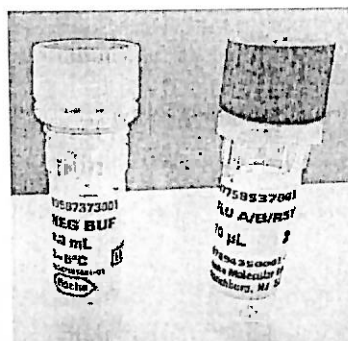



Figura 21. Control positivo Influenza A/B – VRS (derecha) y control negativo NEG BUF (izquierda).

Para controlar un nuevo lote debemos ingresar a la pantalla principal del equipo Cobas LIAT.

- Una vez dentro de la pantalla principal, seleccione la opción **menú de ensayos** y luego el botón “Selecc”. Si el equipo se encuentra sin sesión de usuario, digitar en usuario ADMIN y contraseña 23646.
- Seleccionar la opción [**Lote nuevo**] y, a continuación, el botón “Selecc”.

Se desplegará una ventana en donde necesitaremos la tarjeta del boletín técnico del nuevo lote y la tarjeta de los controles. Dichas tarjetas las encontramos en la caja del kit nuevo a controlar y en la bolsa del kit de controles. Estas tarjetas contienen la información del test, lote, fecha de validación, fecha de caducidad del lote y los días restantes para la activación del ensayo. Una vez que contamos con dichas tarjetas debemos:


- Seleccionar la opción **Escanear**, para escanear el código de barras del boletín técnico del nuevo lote.
- Seleccionar nuevamente el botón **Escanear**, para escanear el código de barras del control negativo.
- Destapar y añadir en el tubo de ensayo del lote a controlar el control negativo utilizando la pipeta de transferencia de 200 µL. Tapar nuevamente el tubo de ensayo.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 37 de 92

- Eliminar pipetas de transferencia usadas según las indicaciones del Protocolo Bioseguridad del Laboratorio.
- Seleccionar el botón **Escanear**.
- Sitúe el tubo de ensayo preparado con el control debajo del lector de código de barras para su lectura.
- Retirar el tubo de ensayo de la funda y cargar el tubo en equipo Cobas LIAT, comenzando automáticamente el procesamiento. La carga en el equipo no debe superar los 10 segundos.
- Transcurrido el tiempo de procesamiento, Aparecerá un mensaje informando que el control se ha aceptado. Seleccione el botón **Confirmar** para confirmar el mensaje. Si el control no se ha completado con éxito se debe repetir el proceso.
- El equipo solicitará que retire el tubo de ensayo del analizador. Elimine el tubo de ensayo en el basurero de residuos peligrosos.
- Espere a que la información de la barra de título deje de parpadear y seleccione a continuación el botón **Atrás**.
- Repita el mismo proceso con el control positivo.
- Revise la entrada para el nuevo lote de tubos de ensayo.
- Registrar los resultados obtenidos en la planilla del Anexo N°10 ubicada en la carpeta compartida QC BIOLOGIA MOLECULAR que se encuentra el Drive de la sección Biología Molecular.

4.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LA DETECCIÓN DE SARS- CoV-2, VRS E INFLUENZA TIPO A/B

- Los kits de reacción INFLUENZA A/B - SARS-CoV-2 e INFLUENZA A/B - VRS se encuentran en el refrigerador 2-8°C ubicado en la Sala de Amplificación.
- Dirigirse al gabinete de bioseguridad de la Sala de Extracción, romper el envoltorio de aluminio del tubo de ensayo y revisar que este se encuentre en condiciones óptimas para su uso.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 38 de 92

- Agitar mediante vórtex las muestras a procesar durante 15 segundos.
- Destapar el tubo de ensayo y transferir la muestra utilizando la pipeta de transferencia de 200 µL. Tapar nuevamente el tubo de ensayo.
- Ingresar al menú del equipo (Main), seleccionar la opción Procesamiento de Ensayo y luego el botón Select. Si el equipo se encuentra sin sesión de usuario, digitar en usuario ADMIN y contraseña 23646.
- Seleccionar la opción Escanear, para escanear el código ID del tubo de ensayo.
- Seleccionar nuevamente el botón Escanear, para escanear el código de barras de la etiqueta de muestra.
- Seleccionar el botón Escanear y proceder a escanear nuevamente el código ID del tubo de ensayo utilizado.
- Retirar el tubo de ensayo de la funda y cargar el tubo en equipo Cobas LIAT, comenzando automáticamente el procesamiento. La carga en el equipo no debe superar los 20 segundos.
- Transcurridos los 20 minutos de procesamiento, el equipo solicitará que retire el tubo de ensayo utilizado.
- Para visualizar los resultados, seleccionar el botón informe.


4.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El equipo presenta los resultados como "DETECTADO", "NO DETECTADO", "INDETERMINADO", o "ENSAYO NO VÁLIDO". Ver tabla N°2 de Interpretación de resultados para SARS- CoV-2, VRS e Influenza Tipo A/B.

Informe de resultados		Interpretación
Influenza A	Influenza A No detectado	Prueba para influenza A Negativa (no se ha detectado ARN de influenza A).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 39 de 92

	Influenza A Detectado	Prueba para influenza A Positiva (se ha detectado ARN de influenza A).
	Influenza A Indeterminado	Es imposible determinar la presencia o ausencia de influenza A. Repetir el ensayo con la misma muestra, si el resultado es el mismo solicitar nueva muestra.
Influenza B	Influenza B No detectado	Prueba para influenza B Negativa (no se ha detectado ARN de influenza B).
	Influenza B Detectado	Prueba para influenza B Positiva (se ha detectado ARN de influenza B).
	Influenza B Indeterminado	Es imposible determinar la presencia o ausencia de influenza B. Repetir el ensayo con la misma muestra, si el resultado es el mismo solicitar nueva muestra.
VRS	VRS No Detectado	Prueba para VRS Negativa (no se ha detectado ARN de VRS).
	VRS Detectado	Prueba para VRS Positiva (no se ha detectado ARN de VRS).
	VRS Indeterminado	Es imposible determinar la presencia o ausencia de VRS. Repetir el ensayo con la misma muestra, si el resultado es el mismo solicitar nueva muestra.
SARS- CoV-2	SARS- CoV-2 No Detectado	Prueba para SARS- CoV-2 Negativa (no se ha detectado ARN de SARS- CoV-2).
	SARS- CoV-2 Detectado	Prueba para SARS- CoV-2 Positiva (no se ha detectado ARN de SARS- CoV-2).
	SARS-CoV-2 Indeterminado	Es imposible determinar la presencia o ausencia de SARS- CoV-2. Repetir el ensayo con la misma

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 40 de 92

		muestra, si el resultado es el mismo solicitar nueva muestra.
--	--	---

Tabla N°2. Interpretación de resultados para SARS- CoV-2, VRS e Influenza Tipo A/B.

4.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS

- Tras la interpretación, los resultados obtenidos se transcriben en el sistema informático del laboratorio BiosLis cómo "Detectado", "No Detectado" o "Indeterminado" para su validación. Ante un resultado Indeterminado se debe solicitar telefónicamente el envío de una nueva muestra junto con un nuevo Formulario de Solicitud de Examen. Los resultados positivos a SARS-CoV2 se deben registrar en la planilla Excel "Planilla_laboratorios_COVID_19" (ver Anexo 3).


4.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA

Para el ingreso de resultados a la plataforma nacional de toma de muestra se debe acceder al siguiente link: <https://tomademuestras.minsal.cl/>, desde ahí se procede a:

- Seleccionar COVID 19.
- Hacer click en la pestaña PCR - Muestras - En proceso.
- Recepcionar las muestras en proceso que se encuentran derivadas hacia H.U.A.P.
- Completar con Resultado y Finalizar.

5. TEST DE ANTÍGENOS SARS-COV-2

Se trata de un ensayo inmunocromatográfico "in vitro" para la detección cualitativa de antígeno de la proteína de la nucleocápside del SARS-CoV-2 desde muestras nasofaríngeas. Durante la prueba, el antígeno SARS-CoV-2 en la muestra interactúa con el anticuerpo monoclonal IgG anti-SARS-CoV-2 conjugado con partículas de color que forman un complejo de partículas de antígeno-anticuerpo. Este complejo migra en la membrana a través de la acción capilar hasta la línea de prueba, donde será capturado por la proteína recombinante del anticuerpo monoclonal de ratón anti SARS-CoV-2 IgG.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 41 de 92

5.1 TOMA DE MUESTRA

Ver en Protocolo de Toma de muestra de Laboratorio Clínico.

Para iniciar la toma de muestra, previamente el médico debe solicitar el examen mediante la "Solicitud de exámenes de Laboratorio: "Test antígeno para SARS-Cov-2" (Anexo N°2). Este documento debe contener toda la información que se solicita, la cual es responsabilidad del clínico y del encargado de toma de muestra completarla. Los datos solicitados incluyen: Identificación del paciente, procedencia de la muestra, médico solicitante, responsable de la toma de muestra, fecha y hora de la toma de muestra, debe incluir el número de ID y Epivigila. Tener en consideración que una vez tomada la muestra esta posee una estabilidad de 1 hora.

5.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- Transportar la tórula en el envase de papel sellado con cinta adhesiva en bolsa plástica, dentro de un contenedor con tapa, resistente a filtraciones y golpe.
- La estabilidad de la muestra es de 1 hora a temperatura ambiente.

5.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS

El horario es durante las 24 horas del día en recepción del Laboratorio Clínico HUAP por el Técnico Paramédico de turno en recepción de muestras.


5.4 RECHAZO DE MUESTRAS

Ver Protocolo de Toma de muestras de Laboratorio Clínico.

5.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Frecuencia: El CCI para la detección de Antígeno SARS-CoV-2 se realiza cada vez que llegue un nuevo lote de test de antígenos SARS- CoV-2, mediante la carga de un control externo negativo y positivo en formato de tórula.

La carga de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 42 de 92

Molecular, sección 5.6. Úsele una tira reactiva para cada control.

Además de estos controles, cada tira reactiva cuenta con un control interno (C) que valida cada test de antígeno realizado. La región de la línea control es invisible antes de la aplicación de la muestra o control y está cubierta por un anticuerpo monoclonal de ratón. La línea control se utiliza como control procedimental y aparecerá siempre que el procedimiento de prueba sea desarrollado adecuadamente y los reactivos de prueba se encuentren operativos.

La interpretación y validación de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 5.7.

Si el resultado de la tira reactiva concuerda con el control cargado en dicha tira, se debe aprobar el nuevo lote de reactivos. En caso contrario se debe repetir el control utilizando una nueva tira reactiva.


Se deben registrar los resultados obtenidos del CCI del nuevo lote en la planilla del Anexo N°11 ubicada en la carpeta compartida QC BIOLOGIA MOLECULAR que se encuentra el Drive de la sección Biología Molecular.

Requisito de calidad: Control positivo debe dar resultado positivo y control negativo debe dar resultado negativo.

Calibración: No requiere.

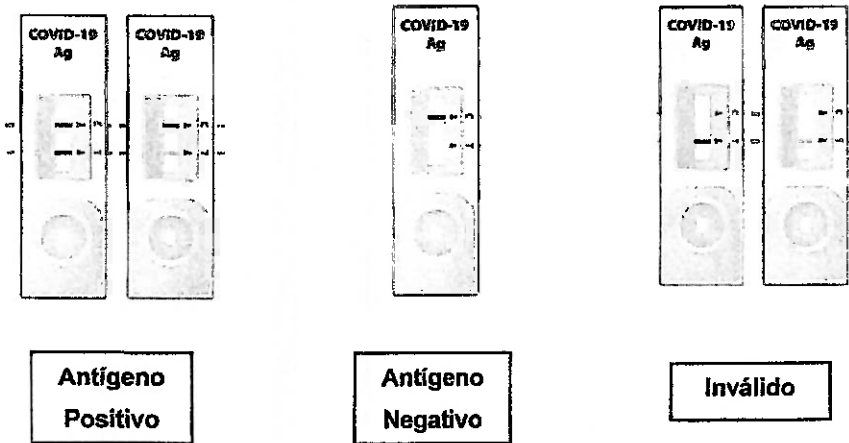
5.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS SARS-COV-2

- Dirigirse a la Sala de Extracción y sacar la tira reactiva de su empaque.
- Romper el sello del tubo con buffer.
- Introducir la tórula de muestra en el tubo con buffer, realizar movimientos rotatorios para suspender el material contenido en la tórula.
- Eliminar la tórula y tapar el tubo con la tapa dispensadora dispuesta en el kit.
- Dispensar 3 gotas en el pocillo de muestras de la tira reactiva.
- Incubar a temperatura ambiente de 15 a 30 minutos.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 43 de 92

5.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Informe de resultados	Interpretación
Antígeno Positivo	La aparición de una línea coloreada en la sección T, indica la presencia de antígenos de SARS-Cov-2.
Antígeno Negativo	La ausencia de una línea coloreada en la sección T, indica la ausencia de antígenos de SARS-Cov-2.
Invalido	No aparece una línea coloreada en el área de control (C), la técnica queda invalidada, siendo requerida una nueva muestra.




5.8 VALIDACIÓN DE RESULTADOS

Tras la interpretación, los resultados obtenidos se transcriben en el sistema informático del laboratorio BiosLis cómo “Positivo”, “Negativo” o “Invalido” para su validación. Ante un resultado Inválido se debe solicitar telefónicamente el envío de una nueva muestra, junto con un nuevo Formulario de Solicitud de Examen. Los resultados positivos a SARS-CoV2 se deben registrar en la planilla Excel “Planilla_laboratorios_COVID_19” (Anexo N°3).

5.9 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA NACIONAL DE TOMA DE MUESTRA

Para el ingreso de resultados a la plataforma nacional de toma de muestra se debe acceder al siguiente link: <https://tomademuestras.minsal.cl/>, desde ahí se procede a:

- Seleccionar COVID 19.
- Hacer click en la pestaña Antígeno > Registro y Seguimiento > Muestras en Creación.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 44 de 92

- Seleccionar muestra en proceso y completar los campos de Datos de la Muestra y Resultado con la marca del test de antígeno utilizada y Resultado.
- Hacer click en Finalizar.

6. DETECCIÓN DE VIRUS VIRUELA SÍMICA POR TÉCNICA qPCR

La Viruela Símica es una zoonosis viral causada por el virus ADN de la viruela símica, que pertenece al género *Orthopoxvirus*, de la familia *Poxviridae*. Ésta se caracteriza por generar erupciones o lesiones cutáneas que suelen concentrarse en la cara, las palmas de las manos y las plantas de los pies. El Ministerio de Salud, a través de su Departamento de Epidemiología, inició la vigilancia de este evento según las recomendaciones internacionales el año 2022.

El kit Bio-Speedy® Monkeypox Virus qPCR es una prueba de transcripción inversa y PCR en tiempo real (RT-qPCR) destinada a la detección cualitativa del ADN y ARNm del virus Monkeypox. La detección con el kit a partir de muestras de lesiones cutáneas se logra mediante RT-qPCR múltiple directa dirigida a la región del gen F3L específica del virus de la Viruela Símica.

6.1 CRITERIO SOLICITUD DE MUESTRA


La toma de muestra debe considerarse sólo para personas que cumplan los siguientes criterios:

- Cumplir con la definición de caso sospechoso establecida según MINSAL.
- Exposición reciente a un caso probable o confirmado.
- Antecedentes de viajes internacionales los últimos 21 días y que presente lesiones cutáneas.

6.2 TOMA DE MUESTRA

Ver en *Protocolo de Toma de muestras de Laboratorio Clínico*.

Para iniciar la toma de muestra, previamente el médico debe solicitar el examen mediante la "Solicitud de exámenes de Laboratorio: "PCR VIRUELA SÍMICA" (Anexo N°2). Este documento debe contener toda la información que se solicita, la cual es responsabilidad del clínico y del encargado de toma de muestra completarla. Los datos solicitados incluyen: Identificación del

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 45 de 92

paciente, procedencia de la muestra, médico solicitante, responsable de la toma de muestra, fecha y hora de la toma de muestra, debe incluir el número de ID.

6.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- Transportar la muestra (2 tubos cónicos tapa rosca con 2 tómulas cada uno o frasco de orina tapa rosca) en bolsa plástica transparente y dentro de un contenedor con tapa, resistente a filtraciones y golpes (cooler) con unidad refrigerante.
- La estabilidad de la muestra es de 7 días a 2-4 °C.

6.4 HORARIO RECEPCIÓN MUESTRAS HUAP Y OTROS CENTROS ASISTENCIALES

El horario de recepción de muestras es durante las 24 horas del día en recepción de muestras del laboratorio clínico HUAP por el Técnico Paramédico. El procesamiento de las muestras de pacientes del HUAP y derivados desde otros centros asistenciales se realiza por tandas y con una hora de validación aproximada (Tabla N°3).

Cada tanda de muestras deberá llegar al menos 10 -15 minutos antes de la hora de procesamiento, si llegasen posterior a dicho horario quedarán para la tanda siguiente. En el caso de muestras de carácter urgente, esta se procesa de forma inmediata, una vez recibida por el Tecnólogo Médico, previo aviso vía telefónica o correo electrónico.


Los resultados estarán dentro de un periodo de 02:30 horas aproximadamente, en caso de que se requiera repetir una muestra, este periodo aumenta a 4 horas a partir del horario de la recepción de la muestra.

Horario de procesamiento de PCR	Horario de validación de resultados
10:00 Horas	12:30 Horas
23:00 Horas	01:30 Horas

Tabla N°3. Horarios de procesamiento y validación de resultados.

6.5 RECHAZO DE MUESTRAS

Ver Protocolo de Toma de muestras de Laboratorio Clínico.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 46 de 92

6.6 CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El CCI para la detección de Viruela Símica por técnica qPCR nos permite evaluar de manera sistemática la existencia de una posible contaminación en la reacción, además de la estabilidad de los reactivos utilizados en la técnica.

Frecuencia: En cada tanda de Viruela Símica que se realice se debe cargar un control negativo y un control positivo provistos en el kit. La carga de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 6.7.

Además de estos controles, el kit para la detección de Viruela Símica cuenta con un control interno endógeno (IC) el cual es un conjunto de oligonucleótidos dirigido al gen RNAsa P humana, funcionando como un control de muestreo, extracción de ácidos nucleicos, transcripción reversa y qPCR.

La interpretación y validación de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 6.8.


Requisito de calidad: Control positivo debe dar resultado positivo y control negativo debe dar resultado negativo.

Calibración: No requiere.

6.7 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DE VIRUELA SÍMICA


6.7.1 INGRESO DE MUESTRAS EN ÁREA TÉCNICA BIOLOGÍA MOLECULAR

El Profesional Tecnólogo Médico debe asignar una numeración interna de trabajo diario a cada muestra, para su manejo en fase analítica, desde el número 1 en adelante. Una vez cerrada la última tanda del día (23:00 horas) se reinicia la numeración interna de trabajo diario partiendo nuevamente desde 1.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 47 de 92

6.7.2 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO MAELSTROM

- Dirigirse al gabinete de bioseguridad de la Sala de Extracción, y resuspender en un tubo Falcon la muestra de lesión con 2 mL de suero fisiológico.
- Aplicar vórtex vigoroso durante 10 segundos.
- Dejar a temperatura ambiente por 5 minutos.
- Dispensar en el cassette 300 µl de muestra y 10 µl de proteinasa K en la posición 1 en el caso de las Auto Tube y en las posiciones 1 y 7 en el caso de las Auto Plate.
- Si el equipo MAELSTROM está apagado, se debe encender desde el interruptor que se encuentra en la parte posterior. El código de usuario predeterminado para iniciar sesión es 333. Este tarda entre 30-40 segundos en inicializar.
- Posicionar el rack de puntas en el instrumento y presionar el icono de montaje para ejecutar. Una vez finalizado el montaje retirar el rack de puntas.
- Posicionar y empujar la Auto Placa y/o Auto Tube hasta el fondo de la rejilla para placas o tubos. Asegurarse que el chaflán de la placa de reactivos esté en la parte inferior izquierda y que la puerta del equipo quede correctamente cerrada al finalizar la carga.
- Seleccionar Run - Elegir Programa "655 rapid". Este programa tiene un tiempo de duración de 30 minutos.
- En la pantalla del equipo se debe presionar la opción Ejecutar - Ejecutar el Programa. Presionar "Sí" para comenzar.
- Una vez finalizado el proceso de extracción retirar el o los cassettes y dirigirse al gabinete de bioseguridad.
- Transferir los eluidos obtenidos (80µl aprox.) desde las posiciones 6 y 12 de la Auto Placa o Auto Tube desde la posición 6 a tubos eppendorf libres de RNAsa, previamente rotulados con el número de muestra correspondiente.
- Finalmente, descartar las placas o tubos usados y las puntas giratorias dentro de una bolsa cerrada y desechar en el contenedor de residuos especiales.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 48 de 92

6.7.3 PREPARACIÓN DE MASTER MIX Y CARGA DE ELUIDOS

- Descongelar por 1 hora a 2-8° C los reactivos que se encuentran en freezer de -20° C de la Sala de Amplificación para la preparación de Master Mix (Monkeypox Virus qPCR kit BIOKSEN).
- Realizar un vórtex y posterior centrifugación spin down a reactivos del Kits de PCR por 5-10 segundos aproximadamente.
- Calcular el volumen a preparar de Master Mix de acuerdo a la cantidad de muestras que conforman la tanda de procesamiento, considerando la totalidad de muestras junto con 2 controles (Positivo y Negativo).


a. Cálculo Master Mix

5 μL	2X Prime script mix
2.5 μL	MPV Oligo Mix
7.5 μL	Volumen total de MasterMix

b. Cálculo Master Mix por pocillo de amplificación

7.5 μL	MasterMix
2.5 μL	Ácido nucleico de la reacción
10 μL	Volumen total de reacción

- Dirigirse a la cámara de flujo laminar de la Sala de Amplificación y preparar Master Mix en tubo eppendorf 1.5 mL según esquema anterior, rotulando su tapa como “MM”. Se prepara un solo master mix por tanda de procesamiento.
- Dejar las tiras/tubos de PCR a utilizar en soporte correspondiente, rotulando en la aletilla superior su número correlativo.
- Dispensar 7.5 μL de Master Mix en cada pocillo y 2.5 μL de eluido.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 49 de 92

- En el penúltimo pocillo dispensar 7.5 µL de Master Mix y 2.5 µL de NTC (Control Negativo).
- Para el último pocillo dispensar 7.5 µL de Master Mix y 2.5 µL de PC-MPV (Control Positivo).
- Tapar las tiras/tubos de PCR con sus respectivas tapas.
- Realizar centrifugación spin down a tiras de PCR por 5-10 segundos aproximadamente.

6.7.4 AMPLIFICACIÓN DE RT-PCR EN TERMOCICLADOR REAL-TIME PCR CFX96TM DX

- Dirigirse a computador de termocicladores ubicados en la Sala de Amplificación, en el escritorio seleccionar icono de programa Bio Rad CFX Dx.
- Seleccionar en opción File > Open > Protocol desplegándose la ventana de Open Protocol.
- Seleccionar carpeta de Allplex Setting donde se encuentran los protocolos de perfil térmico utilizados (Figura 22). Para la amplificación del Kit MonkeyPox virus Qpcr Bioksen elegir el perfil MPX BLOKSEN.

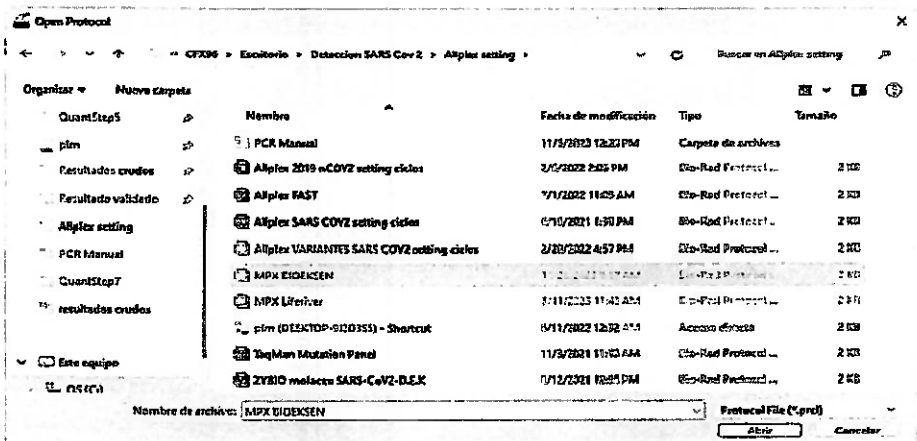



Figura 22. Ventana de selección protocolo de perfil térmico

- Configurar el molde de placa seleccionando la opción Plate - Select Existing - Carpeta PCR Manual – Molde MPX KIT BLOKSEN FINAL – Edit Select (Figura 23).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 50 de 92

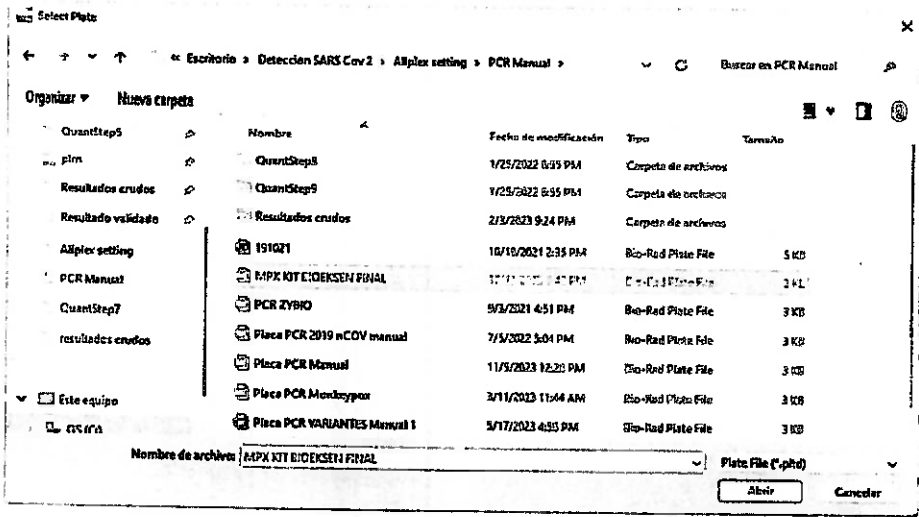


Figura 23. Ventana de selección de molde.

- Verificar que cada molde se encuentre con los canales de fluoróforos FAM y HEX seleccionados (Figura 24).

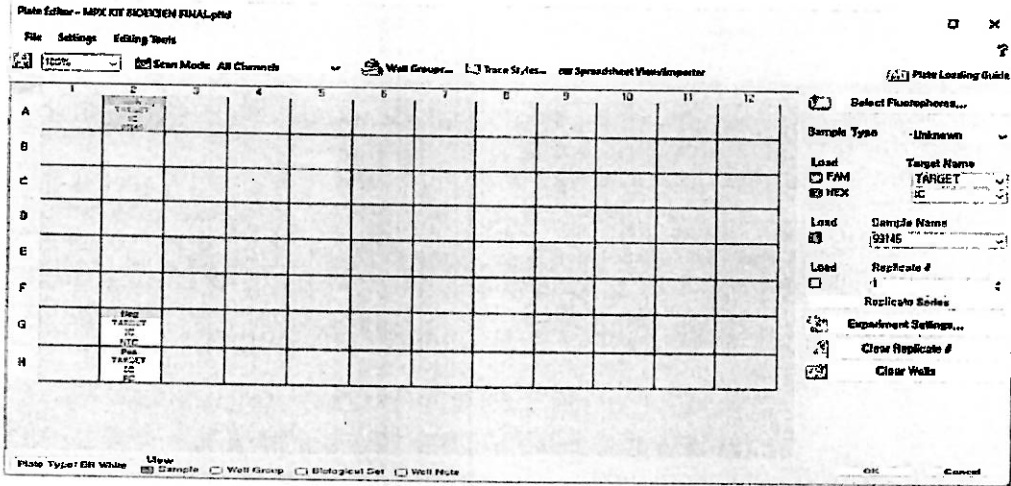



Figura 24. Selección de fluoróforos.

- Seleccionar en el fluoróforo FAM el Target Name "Target", en el fluoróforo HEX el Target Name "IC", en la opción Sample Name en el caso de Control Positivo escribir "PC", en el Control Negativo "NTC" y para la muestra el número de petición creado en recepción.


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 51 de 92

- Escoger termociclador a utilizar en la columna de Block Name y luego seleccionar opción de OPEN LID, esto hará que se abra el termociclador.
- Cargar tiras de PCR, completando siempre con al menos 2 tiras de contrapeso vacías.
- Seleccionar CLOSE LID para cerrar tapa.
- Presionar "Start Run".
- Seleccionar la carpeta "Detección MPX" que se encuentra en el Escritorio.
- Guardar en "Resultados Crudos" copiando el formato de archivos previos y editar la fecha de procesamiento.
- Guardar archivo para así iniciar la corrida de amplificación.
- El proceso de amplificación tiene una duración de 55 minutos para este kit.

6.7.5 DESCARGA DE RESULTADOS FAST FINDER

Terminada la amplificación los datos son analizados mediante la aplicación web FastFinder Bioksen, que permite el análisis de la curva de la corrida de PCR en tiempo real. La información de la curva de amplificación generará un informe en formato PDF.

- Cerrar CFX Manager, dirigirse al navegador web y escribir en el buscador "Fastfinder.app".
- Iniciar sesión con username "biomolecular.huap@gmail.com" y contraseña "labbm12345".
- Ir a la pestaña Análisis - Crear Nuevo Análisis y desde la carpeta de Detección MPX - Resultados Crudos escoger el archivo a analizar (Figura 25).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 52 de 92

FastFinder Overview

Open

Dashboard

Lab entrance

Orders

Run

Analysis

Quality control

Refuse

Incidents

Alerts

Lab entrance

Analysis	Status	Created at	Created by	Last modified at	Last modified by	Labels	Assigned to
231010 BIOESEN MONO PLACA 1	Ready for review	Oct 10, 2023 10:03 PM	hromed@hosp.gub.ve	Oct 10, 2023 10:03 PM	hromed@hosp.gub.ve		
231010 BIOESEN MONO PLACA 1	Ready for review	Aug 20, 2023 8:28 PM	hromed@hosp.gub.ve	Aug 20, 2023 8:28 PM	hromed@hosp.gub.ve		
231010 BIOESEN MONO PLACA 1	Ready for review	Jan 14, 2023 10:52 PM	hromed@hosp.gub.ve	Jan 14, 2023 10:52 PM	hromed@hosp.gub.ve		
231010 BIOESEN MONO PLACA 1	Manual PCR setup required	Jan 8, 2023 8:45 AM	hromed@hosp.gub.ve	Jan 8, 2023 8:45 AM	hromed@hosp.gub.ve		
231010 BIOESEN MONO PLACA 1	Ready for review	Feb 1, 2023 2:21 PM	hromed@hosp.gub.ve	Feb 1, 2023 2:21 PM	hromed@hosp.gub.ve		
231010 BIOESEN MONO PLACA 2	Ready for review	Jan 5, 2023 11:14 PM	hromed@hosp.gub.ve	Jan 5, 2023 11:14 PM	hromed@hosp.gub.ve		

Figura 25. Creación de nuevo análisis y selección de archivo.

- Esperar hasta que la página web complete el estatus a "Listo para Revisar".
- Hacer click en archivo anteriormente subido y analizar que la curva de amplificación y controles estén correctos, para luego seleccionar el botón "Autorizar" (Figura 26).

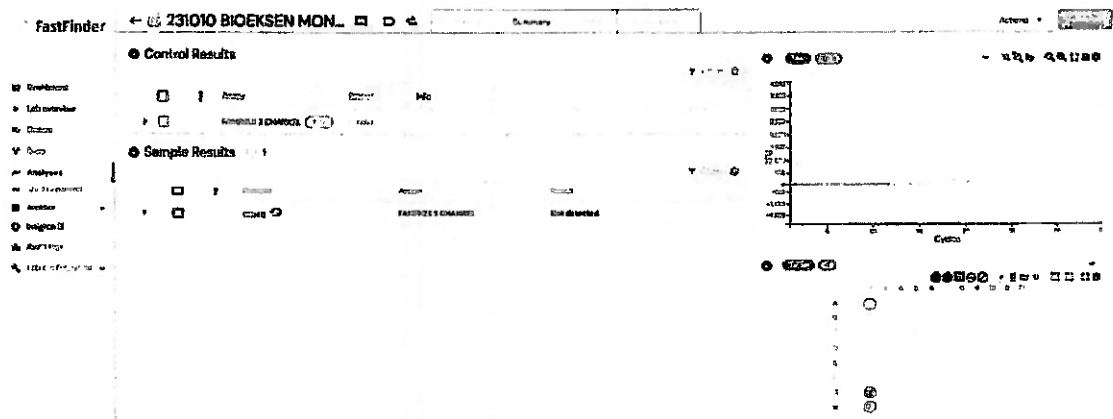



Figura 26. Análisis de curva de amplificación.

- Dirigirse a la pestaña Archivo donde se mostrará el historial de resultados analizados, escoger el archivo del análisis realizado y en seleccionar la opción "Descargar como PDF" (Figura 27).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 53 de 92

FastFinder Analysis results		Análisis interno: AS Análisis externo: AS Análisis interno: AS Control: AS Control interno: AS				
	Análisis interno	Análisis Control by	Análisis Control by	Análisis Control by	Análisis Control	Exportación
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar
✓ Análisis	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	27.11.2023 10:00:00 PM	Exportar

Figura 27. Historial de resultados y descarga de informe.

- Guardar el archivo PDF en la carpeta de escritorio “PCR MPX” - “Informes Fast Finder”.


6.8 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- Criterios de validez de los resultados de control Positivo y Negativo

Para confirmar la validez de los resultados, las ejecuciones de PCR deben ir acompañadas de PC (control positivo) y NTC (control negativo). Se determina que la ejecución del ensayo es válida cuando se cumplen todos los criterios siguientes:

Control	RNASA P (HEX)	FAM
Negativo (NTC)	No detectado N/A	No detectado N/A
Positivo (PC)	Detectado (Ct ≤ 33)	Detectado (Ct ≤ 33)
Control interno (IC)	Detectado (Ct ≤ 33)	Si el target tiene un Ct ≤ 35, se concluye que el IC es válido

En caso de fallo de la validez, los resultados no deben interpretarse ni deben informarse. Además de repetir la reacción de PCR.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 54 de 92

• Interpretación de resultados


F3L (FAM)	RNASA P (HEX)	Interpretación de resultados	Acción
Positivo	Positivo	Resultado válido ADN virus Monkeypox detectado	Informar Positivo
Positivo	Negativo	Resultado válido ADN virus Monkeypox detectado	Informar Positivo
Negativo	Positivo	Resultado válido ADN virus Monkeypox no detectado	Informar Negativo
Negativo	Negativo	Resultado indeterminado	Repetir el ensayo con la misma muestra desde la extracción, si el resultado es el mismo solicitar nueva muestra.

6.9 VALIDACIÓN DE RESULTADOS

Tras la interpretación, los resultados obtenidos se transcriben en el sistema informático del laboratorio BiosLis como "Positivo", "Negativo" o "Indeterminado" para su validación. Ante un resultado Indeterminado se debe solicitar telefónicamente el envío de una nueva muestra, junto con un nuevo Formulario de Solicitud de Examen.

Enviar un correo con informe de resultado cuando sea Positivo o Negativo, a los siguientes destinatarios:

- leylachaban@gmail.com
- vigilancia.eno@minsal.cl
- epidemiologiarm@redsalud.gob.cl

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 55 de 92

- virologi@ispch.cl

- vanessa.aguilera@redsalud.gob.cl.


6.10 INGRESO Y VALIDACIÓN EN PLATAFORMA TOMA DE MUESTRA

Para el ingreso de resultados a la plataforma de toma de muestra se debe acceder al siguiente link <https://tomademuestras.minsal.cl/>, desde ahí proceder:

- Iniciar sesión y seleccionar el módulo Monkey Pox.
- Hacer click en la pestaña PCR.
- Hacer click en Muestras.
- Hacer click en Proceso.
- Recepcionar las muestras en proceso.
- Finalizar muestras con resultado obtenido.

6.11 DERIVACIÓN A ISP PARA SECUENCIACIÓN GENÓMICA

- Las muestras del HUAP que cumplan con los requisitos para secuenciación genómica (Ct< 25 y máximo 7 días desde la fecha de toma de muestra) se debe llenar Formulario online: <https://formularios.ispch.gob.cl/>, Ingresar como usuario: HAPUBLIC - Formularios y seleccionar "Formulario general de envío de muestras clínicas para análisis virológicos".
- En la ventana desplegada ingresar todos los datos personales solicitados: Nombre, RUT, dirección, teléfono, Epivigila, fecha y hora de toma de muestra. En sección "Antecedentes de la muestra" seleccionar aislamiento de virus varicela zoster y en sección "muestra" Seleccionar tórula de lesión.
- En el apartado de "antecedentes clínicos/epidemiológicos del paciente", en la sección diagnóstico escribir el Ct y observación viruela símica. Al finalizar enviar.
- Volver a HOME y seleccionar icono de documento PDF, imprimir 2 copias del formulario, de las cuales una se debe archivar en carpeta de "FORMULARIOS ISP" que se

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 56 de 92

encuentra en la Sala Administrativa, mientras que otra se debe enviar junto a la muestra a derivar.

- Descargar formulario de cada muestra a carpeta de "MUESTRAS ENVIADAS A ISP", luego en la carpeta con fecha del día en que se derivarán las muestras.
- El día de la derivación, enviar previamente por correo formularios a cmedina@ispch.cl con copia a daniela.herrerab@redsalud.gob.cl; daniela.gutierrezm@redsalud.gob.cl laboratorio.bmhuap@redsalud.gob.cl
- Todas las muestras que se deriven deben ser registradas en el libro de derivados del Área de Biología Molecular, indicando la fecha de procesamiento, el número de petición, el tipo de muestra, y la fecha de entrega. Finalmente, la muestra deberá ser entregada al Tecnólogo Médico encargado de derivados, de lunes a viernes antes de las 09:00 horas, mediante triple embalaje y junto con una copia del formulario.

7. DETECCIÓN DEL COMPLEJO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS POR TÉCNICA qPCR


La tuberculosis es una enfermedad transmisible causada por el agente *Mycobacterium tuberculosis*, que se transmite por vía aérea y afecta a diversos órganos, particularmente a los pulmones.

El cultivo y la PCR en tiempo real complementan a la baciloscopia, ya que permite poner en evidencia bacilos presentes en escasa cantidad en una muestra, identificarlos para confirmar que sea el bacilo de la Tuberculosis y determinar la susceptibilidad del microorganismo a los fármacos antituberculosos.

El Xpert MTB/RIF Assay o Ultra, que se usan con el sistema Cepheid GeneXpertR, es una prueba diagnóstica in vitro de PCR semicuantitativa, integrada y en tiempo real, que se utiliza para la detección de ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y mutaciones del gen *rpoB* asociadas a la resistencia a rifampicina.


7.1 TOMA DE MUESTRA

Ver en *Protocolo de Toma de muestra de Laboratorio Clínico*.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 57 de 92

Para iniciar la toma de muestra, previamente el médico debe solicitar el examen mediante la "Solicitud de exámenes de Laboratorio: "Solicitud de Investigación bacteriológica de Tuberculosis" (Anexo N° 2). Este documento debe contener toda la información que se solicita, la cual es responsabilidad del clínico y del encargado de toma de muestra completarla. Los datos solicitados incluyen: Identificación del paciente, procedencia de la muestra, médico solicitante, responsable de la toma de muestra, fecha y hora de la toma de muestra, tipo de hallazgo, estado de tratamiento del paciente, tipo de muestra y vulnerabilidad del paciente. En la Tabla N°4 se resume la toma de muestras de origen pulmonar y extrapulmonar y sus condiciones de recolección.

TIPO DE MUESTRA	MOMENTO DE RECOLECCIÓN	CONDICIONES DE RECOLECCIÓN	CANTIDAD DE MUESTRA	TIEMPO DE CONSERVACIÓN	N° DE MUESTRAS
Expectoración espontánea	La primera inmediata y la segunda matinal	Después de un esfuerzo de tos, en un espacio iluminado, ventilado y privado	Mínimo 3 mL por muestra	Ideal 24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C.	2
Expectoración inducida	Según necesidad	Maniobras kinésicas o nebulización laríngea	Mínimo 3 mL por muestra	Ideal 24-48 horas. Máximo 5 días a 4°C.	2
Lavado Broncoalveolar	Durante procedimiento	Procedimiento médico por fibrobroncoscopia	Mínimo 3 mL por muestra	Procesar inmediatamente. Máximo 4 horas a 4°C.	1
Contenido Gástrico	Matinal	Después de un ayuno de 12 horas	Mínimo 3 mL por muestra	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	2
Orina	Matinal	Muestras en días sucesivos, orina de segundo chorro y luego de un aseo genital prolijo	Mínimo 10 mL	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	Mínimo 3
Pus	Según necesidad	Hisopo o aspirado con jeringa	Lo que se pueda obtener	Procesar inmediatamente	1


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 58 de 92

				máximo 4 horas a 4°C.	
Líquido pleural	Según necesidad	Puede usarse un anticoagulante (EDTA)	Mínimo 3 mL por muestra	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	1
Biopsia o de material resecado	Según necesidad	Con agua destilada estéril o suero fisiológico estéril. Con el volumen necesario para mantenerlo hidratado	Lo que se pueda obtener	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	1
LCR	Según necesidad	Envase estéril	Mínimo 0.5 mL por muestra	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	1
Otros líquidos estériles	Según necesidad	Envase estéril	Mínimo 3 mL por muestra	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	1
Contenido ganglionar	Según necesidad	Envase estéril	Lo que se pueda obtener	Procesar inmediatamente máximo 4 horas a 4°C.	1

Tabla N°4. Resumen de toma de muestras de origen pulmonar y extrapulmonar.

7.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- Transportar la muestra en envase recolector de muestras estéril (frasco recolector de esputo o frasco recolector de orina) envuelto en una bolsa plástica transparente y dentro de un contenedor con tapa, resistente a filtraciones y golpes (cooler) con unidad refrigerante.
- La estabilidad de las muestras Pulmonares es de 24-48 horas. En el caso de muestras extrapulmonares, la estabilidad es de 4 horas desde la toma de muestra, por lo que

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 59 de 92

deben conservarse en refrigeración hasta su procesamiento.

7.3 HORARIO DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS

El horario es durante las 24 horas del día en recepción de muestras del Laboratorio Clínico HUAP por el Técnico Paramédico de turno.

7.4 RECHAZO DE MUESTRAS

Ver *Protocolo de Toma de muestras de Laboratorio Clínico*.

7.5 CONTROL DE CALIDAD INTERNO


El CCI para la detección del Complejo MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS por técnica qPCR consiste en evaluar los procesos, insumos, reactivos y equipamiento utilizados en la realización de la técnica, mediante dos controles incluidos en cada cartucho de carga, los cuales deben ser revisados en cada corrida.

Frecuencia: Cada cartucho para la detección de MTB contiene un control de procesamiento de muestras (SPC, Sample Processing Control) para controlar el procesamiento adecuado de los microorganismos y monitorear la presencia de inhibidores en la reacción de PCR y posterior detección de fluorescencia y un control de comprobación de sonda (PCC, Probe Check Control) para comprobar la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del fluorocromo.

Requisito de calidad: Para el análisis de dichos controles, una vez terminada la PCR nos dirigimos a la sección **Analyte Result** (Figura 28) y comprobamos que tanto el control SPC como el PCC fueron superados.

La interpretación y validación de dichos controles se describe en el Protocolo de Procedimientos de Biología Molecular, sección 7.7.

Calibración: No requiere.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 60 de 92

Interpretación del software

Resultado del control de procesamiento de muestra o SPC PASS = SUPERADO	Test Result:				
	Analyte Result				
	Analyte Name	CT	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result
	SPC	25.4	141	PASS	PASS
	IS1081-IS6110	0.0	15	FAIL	PASS
	rpoB1	0.0	11	INVALID	PASS
	rpoB2	0.0	2	INVALID	PASS
Resultado del control de comprobación de sonda o PCC PASS = SUPERADO	rpoB3	0.0	5	INVALID	PASS
	rpoB4	0.0	12	INVALID	PASS


Figura 28: Pestaña Analyte Result del equipo GENEXPERT, señalando control SPC y PCC.

7.6 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA DETECCIÓN DEL COMPLEJO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS POR TÉCNICA qPCR

7.6.1 PROCESAMIENTO AUTOMATIZADO EN EQUIPO GENEXPERT DX

GeneXpert Dx es un método actualmente recomendado por la OMS para el diagnóstico de la tuberculosis y la detección de resistencia a la rifampicina. Dispone de 4 compuertas para procesamiento, un computador, un lector de código de barras y un software precargado para la realización de las pruebas y visualización de resultados (Figura 29).

El sistema requiere de cartuchos Xpert MTB/RIF Ultra para el diagnóstico de tuberculosis y detección de resistencia a RIF, son desechables de un solo uso. El cuerpo del cartucho se encuentra segmentado en distintas cámaras, las que contienen todas las soluciones y reactivos necesarios en forma de esferas liofilizadas para la realización de la PCR. En la parte posterior se ubica una lengüeta que corresponde al tubo de PCR, donde ocurre la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la fluorescencia emitida por cada sonda. En la base del cartucho se encuentran los diversos componentes mecánicos, encargados de generar la lisis de las bacterias y de comandar el émbolo que dirige las soluciones a las distintas cámaras de procesamiento en el cuerpo.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 61 de 92

Para la detección del bacilo utiliza 2 secuencias multicopia de inserción como objetivos de amplificación IS1081 - IS6110 y para la resistencia a rifampicina 4 sondas (rpoB1, rpoB2, rpoB3 y rpoB4) para identificar las mutaciones en la Región determinante de resistencia a rifampicina (RRDR) del gen rpoB. Los controles del sistema GeneXpert se basan primeramente en una comprobación del estado sistema óptico, temperatura del módulo e integridad de los dispositivos mecánicos de cada cartucho. El segundo control se realiza en cada cartucho a través de controles internos, control de procesamiento de muestras (SPC) y controles de comprobación de sonda (PCC).

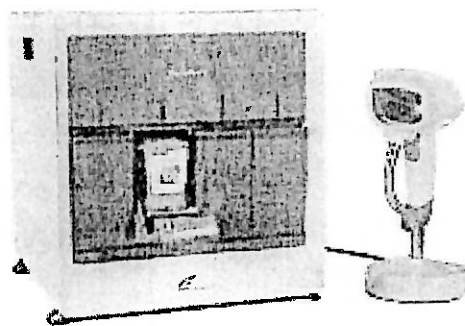



Figura 29. Vista frontal del sistema GeneXpert Dx.

7.6.2

PROCESAMIENTO MANUAL

- Dirigirse al gabinete de la Sala de Extracción y utilizar EPP correspondiente (guantes, mascarilla y pechera desechable).
- Verificar la calidad/cantidad de muestra y si fuera el caso aplicar criterios de rechazo.
- Si la muestra es un esputo se debe observar el aspecto: Saliva, mucosa, mucosanguinolenta o mucopurulenta (Figura 30).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 62 de 92

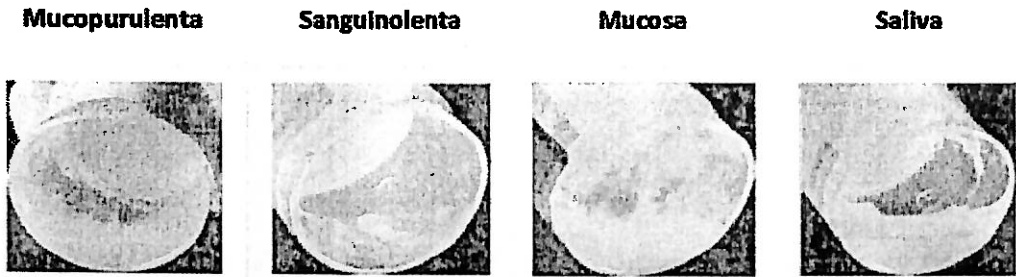



Figura 30. Aspecto macroscópico de muestras de esputo.

- El volumen mínimo de muestra requerida es 1 mL a excepción del LCR, el cual se acepta desde 0.5 mL.
- Si la muestra es líquida y contiene un volumen mayor de 5 mL se debe centrifugar a 1600 RPM durante 15 minutos y eliminar el sobrenadante dejando un volumen de 2 mL aproximadamente. La centrífuga a utilizar se encuentra en el área de siembra de Microbiología.
- Si la muestra es un tejido se debe agregar 2 mL de suero fisiológico al contenedor primario y macerar en mortero estéril dentro del gabinete de la Sala de Extracción.
- En un tubo Falcon estéril de 15 mL agregar 2 mL de buffer Xpert MTB/RIF Sample Rgt. y posteriormente 1 mL de muestra.
- Mezclar en vórtex durante 30 segundos e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Mezclar nuevamente en vórtex durante 30 segundos e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Abrir el cartucho MTB/RIF Ultra y depositar 2 mL de la mezcla en el orificio de muestra por las paredes evitando la formación de burbujas y cerrar el cartucho.

7.6.3 PROCESAMIENTO EQUIPO GENEXPERT DX

- Encender el equipo y el computador.
- Iniciar sesión con usuario cepheid-admin y contraseña cphd.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 63 de 92

- Luego seleccionar en el escritorio el icono GeneXpert Dx, e ingresar usuario BMHUAP y contraseña RBM12345.
- El programa realizará dos preguntas: *"Do you want to perform data base management tasks?"* y *"Archive is overdue. Do you want to archive now?"* a las cuales se debe seleccionar la opción No.
- Seleccionar el icono Create Test, automáticamente se desprende una ventana.
- Seleccionar Manual Entry y escribir el nombre del paciente. Seleccionar OK (Figura 31).

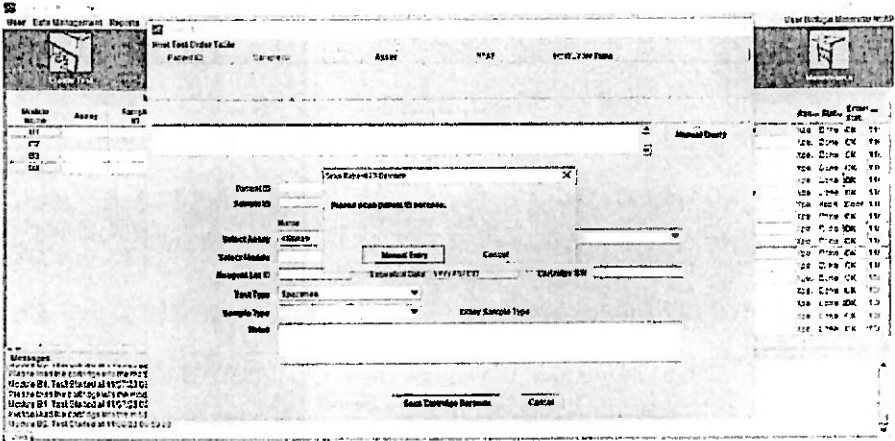


Figura 31. Ventana identificación de paciente.

- En la segunda ventana desprendida escanear la etiqueta de ingreso de la muestra. Seleccionar OK (Figura 32).

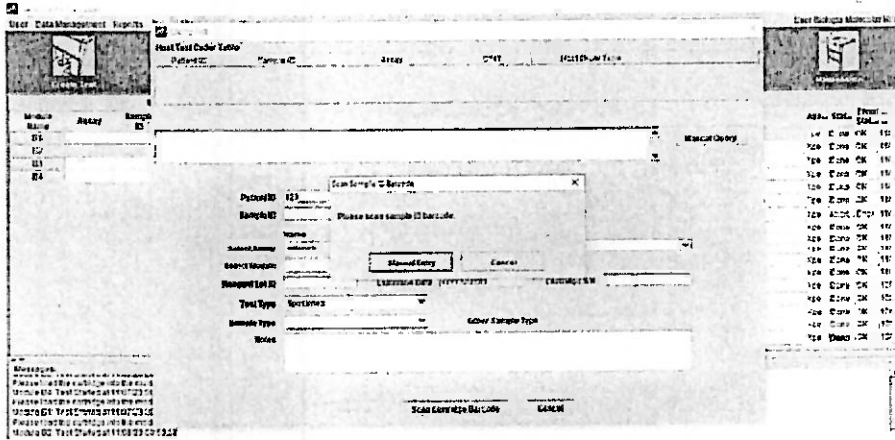



Figura 32. Ventana identificación de muestra.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 64 de 92

- En la tercera ventana desprendida escanear el código QR del cartucho. Seleccionar OK (Figura 33). El cartucho solo permite un único uso.

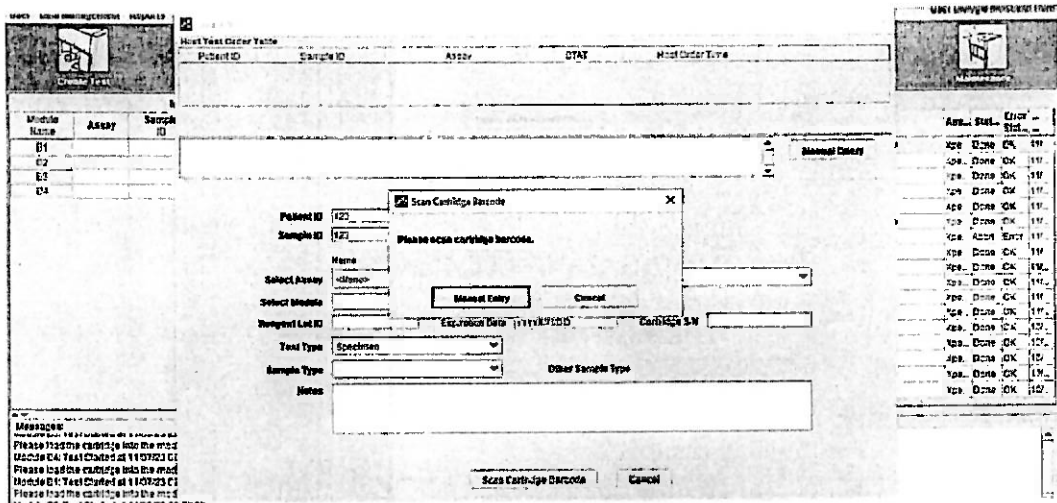


Figura 33. Ventana identificación de cartucho.

- Seleccionar el Módulo en el cual será posicionado el cartucho en el botón Select Module (Figura 34).
- Seleccionar el botón Start Test, para iniciar la prueba el programa solicitará el usuario BMHUAP y la contraseña RBM12345.

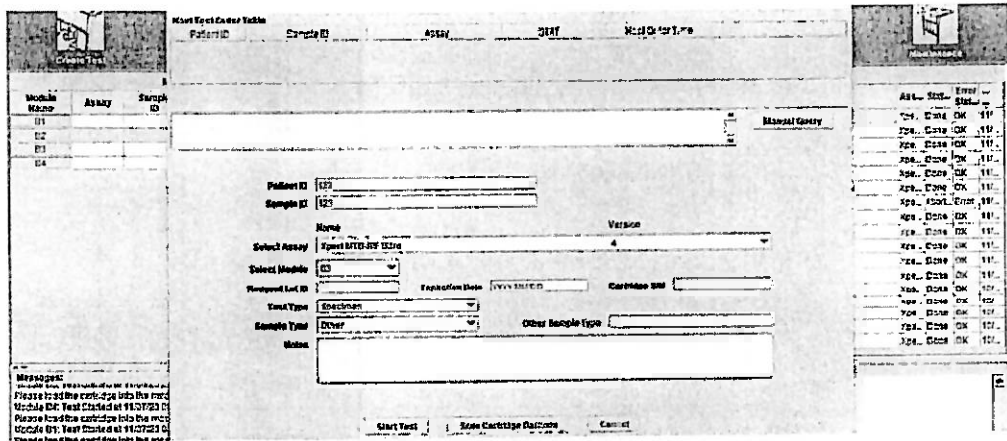




Figura 34. Ventana selección de modulo e inicio de test.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 65 de 92


- Colocar el cartucho con el código QR hacia adelante en el módulo correspondiente cuando la luz led de la compuerta comience a parpadear y cerrar la puerta hasta el tope.
- Al comenzar la prueba la luz del módulo dejará de parpadear. El procesamiento tiene una duración de 01:20 horas aproximadamente.
- Revisar los resultados obtenidos en la pestaña de View Test.

7.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS


Informe de resultados	IS1081-IS6110	SPC	PCC	Interpretación
MTB Detectado No	Secuencia No detectada	Superado	Superado	No se ha detectado la secuencia diana de MTB en la muestra. No se puede determinar la resistencia a Rifampicina debido a una detección insuficiente de la señal.
MTB Detectado Trazas y Resistencia a Rifampicina Indeterminada	Secuencia detectada	N/A	Superado	Un resultado en traza significa que se han detectado niveles bajos de MTB y siempre es de resistencia a rifampicina indeterminada debido a una detección insuficiente de la señal. SPC No se requiere una señal (N/A) porque la amplificación de MTB puede competir con este control.
MTB Detectado Bajo o Muy Bajo y Resistencia a Rifampicina Indeterminado	Secuencia detectada	N/A	Superado	La muestra contiene la secuencia diana de MTB No se puede determinar la resistencia a rifampicina debido a una detección insuficiente de la señal.
MTB Detectado Medio y Resistencia a	Secuencia detectada	N/A	Superado	No es válido un resultado indeterminado para rifampicina si hay un nivel de detección de MTB medio o

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 66 de 92

Rifampicina Indeterminado				<p>alto. Esto se puede deber a un exceso de ADN en la muestra o presencia de inhibidores.</p> <p>Acción correctiva: Se recomienda repetir la prueba con una dilución 1:10.</p>
MTB Detectado Medio y Resistencia a Rifampicina Detectado	Secuencia detectada	N/A	Superado	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>Se ha detectado al menos una mutación rpoB.</p>
MTB Detectado Medio y Resistencia a Rifampicina No Detectado	Secuencia detectada	N/A	Superado	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>No se ha detectado ninguna mutación en la secuencia diana del gen rpoB.</p>
MTB Detectado Alto y Resistencia a Rifampicina Detectado	Secuencia detectada	N/A	Superado	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>Se ha detectado al menos una mutación rpoB.</p>
MTB Detectado Alto y Resistencia a Rifampicina No detectado	Secuencia detectada	N/A	Superado	<p>La muestra contiene la secuencia diana de MTB.</p> <p>No se ha detectado ninguna mutación en la secuencia diana del gen rpoB.</p>

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 67 de 92

Invalido	N/A	No Superado	Superado	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de la diana de MTB (N/A). Causas posibles: Recogida inadecuada de la muestra, preparación incorrecta de la muestra, conservación inadecuada de los cartuchos, procesamiento ineficaz de la muestra en el cartucho, presencia de sustancias interferentes en la muestra, falta de cebador, sonda o microesferas de enzimas.</p> <p>Solución: Repetir prueba con un nuevo cartucho y nueva muestra.</p>
Error	Sin resultado	Sin resultado	No Superado	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de la diana de MTB.</p> <p>Si la Comprobación de sonda PCC da un resultado No superado, las causas posibles son: Recogida inadecuada de la muestra, volumen de muestra incorrecto añadido al cartucho.</p>
	Sin resultado	Sin resultado	Superado	<p>Si la Comprobación de sonda PCC da un resultado superado, las causas posibles son:</p> <p>Problema en el módulo del sistema GeneXpert.</p> <p>Solución: Repetir prueba con un nuevo cartucho.</p>
Sin resultado	Sin resultado	Sin resultado	N/A	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de la diana de MTB.</p> <p>Las causas posibles son: La prueba se detuvo, falla eléctrica.</p> <p>Solución: Asegurar la alimentación de energía, Repetir prueba con un nuevo cartucho.</p>

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 68 de 92


7.8. VALIDACIÓN DE RESULTADOS

Tras la interpretación, los resultados obtenidos se transcriben en el sistema informático del laboratorio BiosLis.

- En el apartado Calidad de Muestra se debe seleccionar el tipo de muestra procesada.
- En el apartado Resistencia e Interpretación de los antibióticos que no se procesan en el cartucho Xpert MTB/RIF seleccionar la opción No Aplica.
- En el apartado Nro de Cultivo seleccionar la opción Pendiente o No Aplica en caso de que la muestra cumpla o no los criterios de derivación al HCSBA.
- En el apartado Antecedentes de Tratamiento seleccionar opción según lo señalado en la solicitud del examen.
- En el apartado Grupo de Riesgo solo se debe ingresar ".", ya que esta es información confidencial.

7.9 REGISTRO Y ENVÍO DE RESULTADOS

- Dirigirse al correo de la sección de Biología Molecular (Biologiamolecular.huap@gmail.com), y en drive abrir archivo "Planilla de Muestras Diarias TBC", agregar los datos solicitados en la tabla.
- En el Libro Ministerial de Registro y Seguimiento de Casos Presuntivos de Tuberculosis (CPT), se deben escribir todos los datos solicitados en la tabla con lápiz pasta azul, los resultados deben ser escritos con los símbolos "-" en caso de que no se haya detectado el bacilo y no presente resistencia a rifampicina, mientras que en el caso de que se haya detectado el bacilo y presente resistencia a rifampicina se debe escribir en rojo el símbolo "+".
- En caso de que el resultado sea detectado se debe llamar al Servicio donde se encuentra el paciente para informar vía telefónica al médico o enfermero de turno (Ver Protocolo de Notificación de Valores Críticos de Laboratorio Clínico). Además, se debe enviar un correo con el informe de resultado a los siguientes destinatarios:

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 69 de 92

- victor.hernandezh@redsalud.gob.cl
- christian.calquin@redsalud.gob.cl
- procet.hcsba@redsalud.gob.cl
- mnavarretevega@gmail.com
- danielae.riverac@redsalud.gob.cl
- francisca.perez@redsalud.gob.cl
- vanessa.aguilera@redsalud.gob.cl
- valentina.bucarey@redsalud.gob.cl

7.10 DERIVACIÓN DE MUESTRAS AL HOSPITAL CLÍNICO SAN BORJA ARRIARÁN

En el marco del Programa de Tuberculosis del Servicio de Salud Metropolitano Central, se requiere el uso de técnicas de Biología Molecular para el diagnóstico de Tuberculosis, por lo que resulta necesaria la colaboración entre establecimientos de la Red Asistencial como lo son el HUAP y el HCSBA, con el fin de asegurar el adecuado y oportuno diagnóstico, seguimiento y tratamiento de nuestros usuarios.


Bajo el contexto Nacional y el convenio colaborativo que actualmente existe entre ambas instituciones es que se han definido los siguientes criterios para la derivación de muestras al HCSBA:

a) Según condición del paciente:

- Pacientes contactos TBC, menores de 15 años y pacientes con VIH.
- Pacientes en control de tratamiento deben ser derivados directamente a HCSBA sin procesamiento de PCR.

b) Según tipo de muestras:

- Muestras de origen extrapulmonar: Todas muestras extrapulmonares indicadas en PROCET y contenido gástrico deben ser derivadas independientes de su resultado.
- Muestras de origen pulmonares: Esputos, LBA, aspirado bronquial con un resultado Detectado.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 70 de 92

Todas las muestras que se deriven deben ser registradas en el libro de derivados del Área de Biología Molecular que se encuentra en la sala administrativa, indicando la fecha de procesamiento, el número de petición, el tipo de muestra, y la fecha de entrega. Finalmente, la muestra deberá ser entregada al Tecnólogo Médico encargado de derivados, de lunes a viernes antes de las 09:00 horas, mediante triple embalaje junto con la copia de la Solicitud de Investigación bacteriológica de Tuberculosis.

8. CONSERVACIÓN DE MUESTRAS POST-ANÁLISIS Y ELIMINACIÓN DE DESECHOS

El contenedor primario de la muestra se conservará por una semana a -80°C en ultracongelador vertical exclusivo para este fin, en caso de que se deba repetir el análisis o derivar a otro centro asistencial.

Los eluidos ya analizados igualmente se conservan a -80°C en ultracongelador por un periodo de tres semanas para luego ser eliminados.

La eliminación de muestras se realiza bajo directrices del *Protocolo de Bioseguridad del Laboratorio Clínico*.

9. MANTENIMIENTO DE USUARIO


Se debe realizar mantenciones y limpieza diaria al equipamiento del Área de Biología Molecular para garantizar el correcto funcionamiento de éstos.

9.1 MANTENIMIENTO MAELSTROM

El Área Técnica de Biología Molecular cuenta con dos equipos Maelstrom que funcionan en modalidad espejo para el procesamiento de muestras. Es importante limpiar los instrumentos después de cada uso y en caso de derrame de muestras o reactivos, se debe limpiar el dispositivo de inmediato con alcohol 70% para evitar daños o contaminación en las muestras.

El mantenimiento diario del equipo consiste en:

- Limpieza la superficie interna utilizando papel absorbente con alcohol 70%.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 71 de 92

- Limpieza los soportes de varillas metálicas con papel absorbente y agua destilada
- Apagar uno de los dos equipos, noche por medio durante tres horas.

La mantención se registra en la Planilla Registro Mantención usuario equipo MAELSTROM 4800 - 4810 (Anexo N°6).

9.2 MANTENIMIENTO TERMOCICLADOR CFX96™ BIORAD

Para la amplificación de las muestras se utilizan tres termocicladores CFX96 en modalidad espejo. La tecnología desarrollada para los sistemas CFX96, permite que estos funcionen con un mantenimiento mínimo por parte del usuario. El mantenimiento diario del equipo consiste en:

- Limpieza de superficie utilizando papel absorbente con alcohol 70%.

La mantención se registra en la Planilla Registro Mantención usuario equipo CFX96 IVD BIORAD (Anexo N°7).


Aparte del mantenimiento diario, se realiza también una visita técnica anual, en la que se efectúa una revisión interna más exhaustiva, revisión de partes móviles, limpieza profunda, actualizaciones de software y pruebas de mecanismos. Esta fecha de mantenimiento se establece a partir de la fecha de instalación del equipo, con una duración de doce meses.

9.3 MANTENIMIENTO COBAS LIAT

El área de Biología Molecular cuenta con tres equipos Cobas LIAT que funcionan en modalidad espejo para el procesamiento de muestras. El mantenimiento diario del equipo consiste en:

- Limpieza de superficie utilizando papel absorbente con alcohol 70%.

La mantención se registra en la Planilla Registro Mantención usuario equipo COBAS LIAT (Anexo N°8).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 72 de 92

9.4 MANTENIMIENTO GENEXPERT DX

El equipo posee mantenciones que se realizan de manera diaria, semanal y mensual. El mantenimiento diario del equipo consiste en:


- Limpieza del área de trabajo utilizando papel absorbente con alcohol 70%.
- Cerrar puerta de los módulos.
- Desechar los cartuchos usados en el contenedor de residuos especiales.

El mantenimiento semanal del equipo consiste en:

- Apagado del computador y el equipo.
- Desinfección del interior de los compartimientos de cartuchos, utilizando papel absorbente con cloro 0.5% y luego papel absorbente con alcohol 70%.
- Desinfección de la superficie del instrumento, utilizando papel absorbente con cloro 0.5% y luego papel absorbente con alcohol 70%.
- Limpieza del prefiltro de los ventiladores ubicados en la zona posterior del equipo, eliminando el polvo y limpiando con agua destilada.

El mantenimiento mensual del equipo consiste en:

- Almacenar pruebas, luego del reinicio semanal, se despliega una ventana preguntando *Do you want to perform database management tasks?*, seleccionar *Yes*, seguido se desplegará otra ventana donde se debe seleccionar la opción *Database Backup* y *Proceed*. En la nueva ventana desplegada seleccionar la opción *Save*.
- Desinfección de los émbolos utilizando papel absorbente con Cloro 0.5% y luego papel absorbente con alcohol 70%. Seleccionar en el programa la opción *Maintenance* y *Plunger Rod Maintenance*, se desplegará una ventana seleccionando *Clean all*.
- Limpieza de ranura de inserción usando el cepillo de limpieza incluido en los materiales externos del equipo.
- La mantención se registra en la Planilla Registro Mantención usuario equipo GENEXPERT DX (Anexo N°9).

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 73 de 92

10. TIEMPOS DE RESPUESTA

Los tiempos de respuesta para los exámenes de la sección de Biología Molecular están descritos en el *Protocolo Tiempos de Respuesta de exámenes de Laboratorio*

VII. CONTINGENCIAS


- Falla de sistema informático BiosLis.
- Falla o intermitencia de red que impida el envío de correos electrónicos y que afecte la red telefónica.
- Falla de equipos.
- Falta de reactivos o insumos.

VIII. DISTRIBUCIÓN

- Dirección
- Subdirección de Gestión Clínica
- Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente.
- Unidad de Laboratorio Clínico.


IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. Ord A1 / N° 793 Envía "Guía de la Estrategia Nacional de Testeo, trazabilidad y aislamiento": 2021.
2. Pinheiro, Maria da Conceição N., Freitas Junior, José Aglair Barbosa de, & Carneiro, Saul Rassy. (2020). Situación actual del COVID-19 en Sudamérica. Revista chilena de infectología, 37(3), 311-312. <https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300311>.
3. World Health Organization. (2020). Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 19 March 2020 (No. WHO/COVID-19/laboratory/2020.5). World Health Organization.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 74 de 92

QUE INDICA POR BROTE DE COVID-19" (Disponible en: <https://www.minsal.cl/wpcontent/uploads/2020/06/1771191.pdf>)

5. Udugama, B., Kadhiresan, P., Kozłowski, H. N., Malekjahani, A., Osborne, M., Li, V., Chen, H., Mubareka, S., Gubbay, J. B., & Chan, W. (2020). Diagnosing COVID- 19: The Disease and Tools for Detection. ACS nano, 14(4), 3822–3835. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624>)
6. Eftekhari, A., Alipour, M., Chodari, L., Maleki Dizaj, S., Ardalan, M., Samiei, M., Sharifi, S., Zununi Vahed, S., Huseynova, I., Khalilov, R., Ahmadian, E., & Cucchiarini, M. (2021). A Comprehensive Review of Detection Methods for SARS-CoV-2. Microorganisms, 9(2), 232. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020232>)
7. Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR): áreas y flujos de trabajo. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile, 2017.: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20lab.%20que%20realizan%20la%20t%C3%A9cnica%20de%20PCR%20%C3%A1reas%20y%20flujos%20v1.pdf>.
8. Guía para la toma de muestras respiratorias de vía aérea alta y baja, en pacientes con sospecha por coronavirus (covid-19) https://www.medicina-intensiva.cl/site/covid/guias/guia_toma_muestras_respiratorias_pacientes_con_sospecha_de_COVID_19.pdf
9. Guía técnica para el transporte de departamento laboratorio biomédico nacional y de referencia sustancias infecciosas hacia el instituto de salud pública. División 6.2 Sustancias Infecciosas. https://www.ispch.cl/wp-content/uploads/resoluciones/30978_0177-2021.pdf
10. Orientación técnica del manejo clínico de la viruela símica 2° edición 2022. Departamento de enfermedades transmisibles. Ministerio de salud Chile, 2022.: https://diprece.minsal.cl/wp-content/uploads/2022/12/Orientacion-Tecnica-del-Manejo-Clinico-de-Viruela-Simica-2022_v2.pdf
11. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis.

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 75 de 92


Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile, 2019.:

<https://www.ispch.cl/sites/default/files/Manual%20de%20procedimientos%20t%C3%A9cnicos%20para%20el%20diagn%C3%B3stico%20bacteriol%C3%B3gico%20de%20la%20TBC.pdf>

12. Manual de organización y procedimientos del programa nacional de control y eliminación de la tuberculosis. Ministerio de salud Chile, 2015.: https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2015/09/MANUAL-PROCEDIMIENTOS-TUBERCULOSIS_185x260_final.pdf

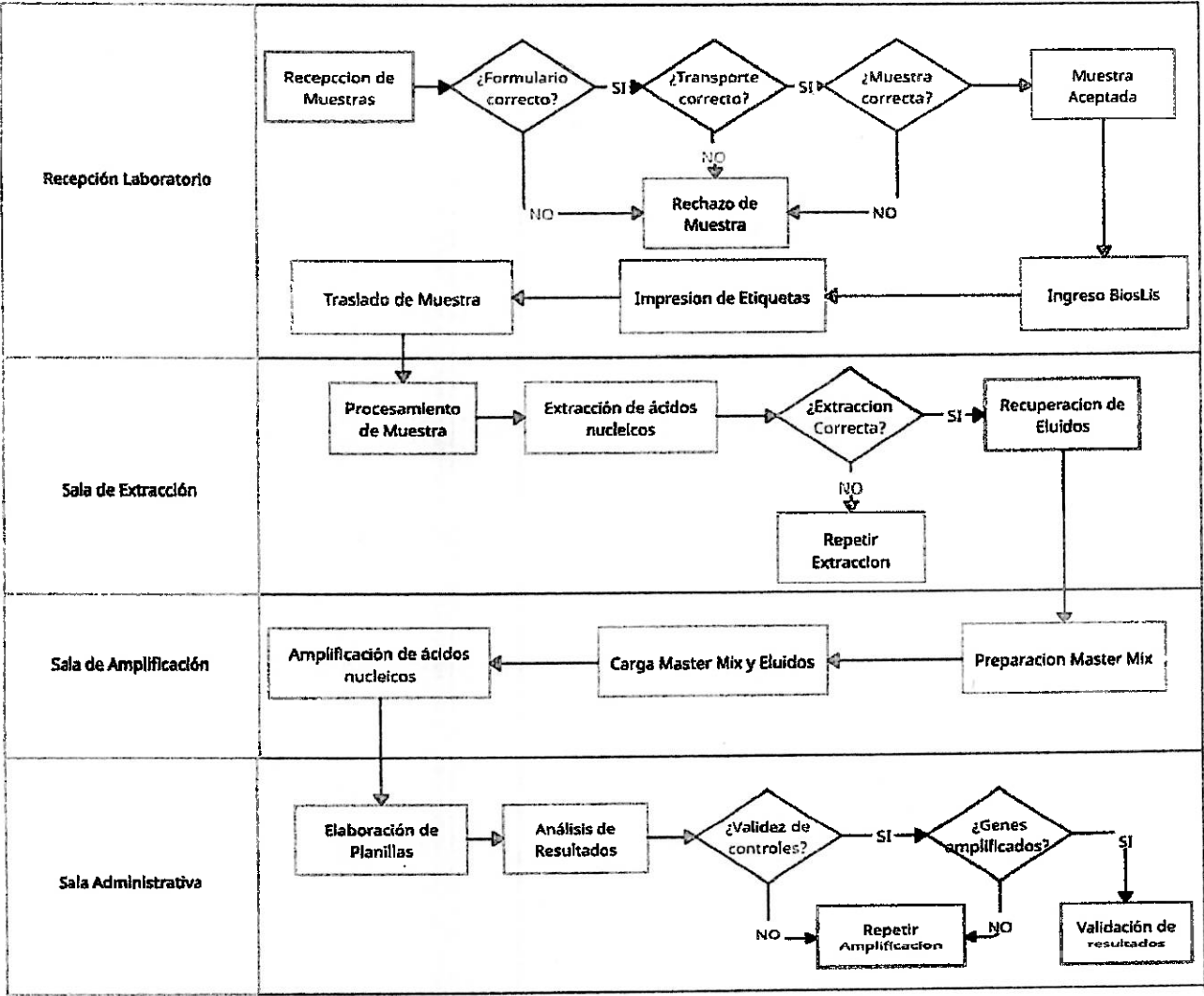
X. MODIFICACIONES DEL DOCUMENTO


SÍNTESIS DE MODIFICACIONES			RESPONSABLE MODIFICACIÓN	APROBADO POR
VERSIÓN	FECHA	CAUSA DE MODIFICACIÓN		
01	06/2021	Creación	Dr. Rodrigo Vera Coordinador Biología Molecular TM. Daniela Herrera Coordinadora Laboratorio TM. Nicole Agüero Profesional Biología Molecular EU María Teresa Mozó Unidad de IAAS	Dr. Luis Carrasco Director
02	11/2023	Se incorporan técnicas de detección para TBC, Virus respiratorios y Viruela símica. Se incorpora procedimiento para variantes genómicas para SARS-CoV2	TM. Benjamín Pavez. TM. Felipe Báez. Profesionales de Laboratorio Clínico	Dr. Patricio Barria A. Director

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 11/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 76 de 92


XI. ANEXOS

ANEXO Nº1. FLUJO DE TRABAJO Y ENTREGA DE RESULTADOS



	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 11/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 77 de 92

ANEXO Nº2. SOLICITUD DE EXÁMENES DEL AREA DE BIOLOGIA MOLECULAR



Servicio de Salud Metropolitano Centro
Hospital de Urgencia Asistencia Pública
Servicio de Laboratorio Clínico

Fecha: ____ de ____ de ____
Unidad: ____ Correo: ____
Anexo: ____

ORDEN DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Nombre(s): _____

Apellido Materno: _____

Apellido Paterno: _____

RUT/Pasap: _____

Fecha: _____

Nacionalidad: _____

Fecha Rec: _____

Edad: _____

Sexo: ☐ Hombre ☐ Mujer

Diagnóstico: _____

☐ Torcido Nasobronco

☐ Torcido Oído

☐ Depósitos

☐ Aspirado Traqueal

☐ Lavadio Oído

☐ Otros: _____

☐ Lavado Bronco-Alveolar

☐ Líquido Cefaloraquídeo

Unidad de PCR

Unidad de Filtración

Unidad de PCR rápida

☐ SARS-CoV-2 (Bronc Epiglot)

☐ Virus Sínica (Bronc Epiglot)

☐ Respiratorio (Bronc Epiglot)

☐ Mononucleo

☐ Meningitis

☐ Chlamydia e Hfide

☐ SARS-CoV-2 e Influenza (A y B)

Nombre y Firma - Médico Solicitante

RUT

DATOS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA - EPIDEMIOLOGÍA

Dirección: _____

Comuna: _____

Ciudad: _____

Teléfono: _____

C-mail: _____

Prevalencia: ☐ FORASA ☐ SAPPE

Responsable: _____

Unidad: _____

Atento: _____

Fecha: _____

Horas: _____

Nº EPIDEMIO _____ Nº ID (PRIM) _____


LLENADO EXCLUSIVO DE LABORATORIO CLÍNICO

Responsable: _____

Fecha: _____

Horas: _____

Observaciones: _____

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 78 de 92




SOLICITUD DE EXAMEN DE LABORATORIO
PCR INFLUENZA A/B - SARS-CoV-2

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE		
Nombres:		Procedencia: _____
Apellido Paterno:		
Apellido Materno:		Nacionalidad:
RUT:		Edad:
Fecha nacimiento:		
Sexo:	<input type="checkbox"/> Femenino	<input type="checkbox"/> Masculino
Prioridad:	<input type="checkbox"/> Hospitalizado	<input type="checkbox"/> Funcionario
		<input type="checkbox"/> Ambulatorio
Dirección:	Provincia:	
Comuna:	Ciudad:	
Teléfono:	Email:	
PROCEDENCIA		
Hospital:		Servicio:
Servicio de Salud:		
Nombre Médico solicitante:		RUT:
Fono/anexo:		
Fecha solicitud examen:		
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA		
Tipo de muestra:	<input type="checkbox"/> Tornado nasofaríngeo	
Nombre responsable toma de muestra:		
Fono/anexo:		
Fecha/Hora toma de muestra:		
N° epígrafa:		
N° ID:		
BIOLOGIA MOLECULAR		

Firma Médico

USO EXCLUSIVO LABORATORIO	
Responsable:	Fecha y Hora:
Observaciones:	

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 79 de 92




**SOLICITUD DE EXAMEN DE LABORATORIO
PCR INFLUENZA A/B - VRS**

IDENTIFICACION DEL PACIENTE		
Nombres:		Procedencia: _____
Apellido Paterno:		
Apellido Materno:		Nacionalidad:
RUT		Edad:
Fecha nacimiento:		
Sexo:	<input type="checkbox"/> Femenino	<input type="checkbox"/> Masculino
Prioridad:	<input type="checkbox"/> Hospitalizado	<input type="checkbox"/> Funcionario
		<input type="checkbox"/> Ambulatorio
Dirección:		Provisión:
Comuna:		Ciudad:
Teléfono:		Email:
PROCEDENCIA		
Hospital:		Servicio:
Servicio de Salud:		
Nombre Médico solicitante:		RUT:
Fono/anexo:		
Fecha solicitud examen:		
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA		
Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> Tornado nasofaríngeo		
Nombre responsable toma de muestra:		
Fono/anexo:		
Fecha/Hora toma de muestra:		
BIOLOGIA MOLECULAR		

Firma Médico

USO EXCLUSIVO LABORATORIO	
Responsable:	Fecha y Hora:
Observaciones:	


	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 80 de 92



SOLICITUD DE EXAMEN DE LABORATORIO

TEST ANTÍGENO SARS-CoV-2

IDENTIFICACION DEL PACIENTE		
Nombres: _____		
Apellido Paterno: _____		Procedencia: _____
Apellido Materno: _____		Nacionalidad: _____
RUT: _____		Edad: _____
Fecha nacimiento: _____		
Sexo:	<input type="checkbox"/> Femenino	<input type="checkbox"/> Masculino
Prioridad:	<input type="checkbox"/> Hospitalizado	<input type="checkbox"/> Funcionario <input type="checkbox"/> Ambulatorio
Dirección: _____	Previsión: _____	
Comuna: _____	Ciudad: _____	
Teléfono: _____	Email: _____	
PROCEDECIA		
Servicio de Salud: _____		Servicio: _____ Hospital: _____
Nombre Médico solicitante: _____		RUT: Fono/anexo: _____
Fecha solicitud examen: _____		
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA		
Tipo de muestra:	<input type="checkbox"/> Tornado nasofaríngeo	
Nombre responsable toma de muestra: _____		
Fono/anexo: _____		
Fecha/Hora toma de muestra: _____		
N° epígrafe: _____		
N° ID: _____		
BIOLOGÍA MOLECULAR		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 81 de 92




SOLICITUD DE EXAMEN DE LABORATORIO
PCR VIRUELA SIMICA

IDENTIFICACION DEL PACIENTE	
Nombres: _____	
Apellido Paterno: _____	
Apellido Materno: _____	
RUT: _____	
Nacionalidad: _____	
Fecha nacimiento: _____	
Edad: _____	
Sexo: <input type="checkbox"/> Femenino <input type="checkbox"/> Masculino	
Prioridad: <input type="checkbox"/> Ambulatorio <input type="checkbox"/> Hospitalizado <input type="checkbox"/> Otro: _____	
Dirección: _____	
Comuna: _____	
Provisión: _____	
Teléfono: _____	
Ciudad: _____	
Email: _____	
PROCEDENCIA	
Hospital: _____	
Servicio de Salud: _____	
Nombre Médico solicitante: _____	
RUT: _____	
Fono/anexo: _____	
Fecha solicitud examen: _____	
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	
Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> Toruloso de lesión: _____	
<input type="checkbox"/> Toruloso de lesión: _____	
<input type="checkbox"/> Costra de lesión: _____	
<input type="checkbox"/> Costra de lesión: _____	
Nombre responsable toma de muestra: _____	
Fono/anexo: _____	
Fecha/Hora toma de muestra: _____	
N° epígrafa: _____	
N° ID: _____	
BIOLOGIA MOLECULAR	

Firma Médico


USO EXCLUSIVO LABORATORIO	
Responsable: _____	Fecha y Hora: _____
Observaciones: _____	

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 82 de 92



SOLICITUD DE EXAMEN DE LABORATORIO
PCR SARS-CoV-2

IDENTIFICACION DEL PACIENTE		
Nombres: _____		
Apellido Paterno: _____		Procedencia: _____
Apellido Materno: _____		
RUT: _____	Nacionalidad: _____	
Fecha nacimiento: _____	Edad: _____	
Sexo: <input type="checkbox"/> Femenino <input type="checkbox"/> Masculino		
Prioridad: <input type="checkbox"/> Hospitalizado <input type="checkbox"/> Funcionario <input type="checkbox"/> Ambulatorio		
Dirección: _____	Provincia: _____	
Comuna: _____	Ciudad: _____	
Teléfono: _____	Email: _____	
PROCEDENCIA		
Servicio de Salud: _____	Servicio: _____	Hospital: _____
Nombre Médico solicitante: _____	RUT: Funcionario: _____	
Fecha solicitud examen: _____		
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA		
Tipo de muestra: <input type="checkbox"/> Torulado nasofaríngeo		
Nombre responsable toma de muestra: _____		
Fono/anexo: _____		
Fecha/Hora toma de muestra: _____		
N° epitigila: _____		
N° ID: _____		
BIOLOGIA MOLECULAR		

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 83 de 92



SOLICITUD DE INVESTIGACIÓN BACTERIOLÓGICA DE TUBERCULOSIS

NOMBRES	PRIMER APELLIDO	SEGUNDO APELLIDO
RUT	FECHA DE NACIMIENTO	EDAD
ESTABLECIMIENTO	UNIDAD	SECTOR
DOMICILIO	TELÉFONO	

EXAMEN SOLICITADO PARA:

☐ PESQUISA

☐ CONTROL DE TRATAMIENTO

N° MES _____

☐ PERSISTENCIA DE SÍNTOMAS

ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO

☐ Caso nuevo

☐ Previamente tratado, recaída.

☐ Previamente tratado, pérdida de seguimiento.

SEÑALE EL TIPO DE MUESTRA

☐ Esputo

☐ Lavado broncoalveolar

☐ Aspirado bronquial

☐ Contenido gástrico

☐ Líq. Cefalorraquídeo

☐ Otros líquidos o tejidos (especificar):

☐ Líq. Pleural

☐ Tejido ganglionar

☐ Tejido óseo

☐ Tejido pleural

☐ Orina 1ª Muestra

☐ Orina 2ª Muestra

☐ Orina 3ª Muestra

IDENTIFIQUE GRUPOS VULNERABLES

☐ Mayor de 65 años

☐ Extranjero

☐ Contacto TB-Sensible

☐ Contacto TB-Resistente

☐ PVIH

☐ Diabetes

☐ Alcohol / Drogas

☐ Pueblo indígena

☐ Persona privada de libertad

☐ Personal de salud

☐ Inmunosupresión

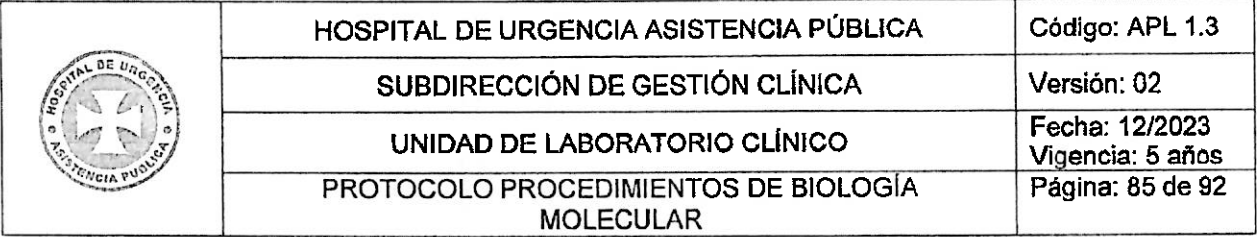
☐ Situación de calle

☐ Trabajador expuesto a sílice

☐ Otras poblaciones cerradas (especificar):


☐ Otro grupo (especificar):

IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE	
FECHA DE SOLICITUD	
FECHA DE TOMA DE MUESTRA	
RESPONSABLE DE TOMA DE MUESTRA	



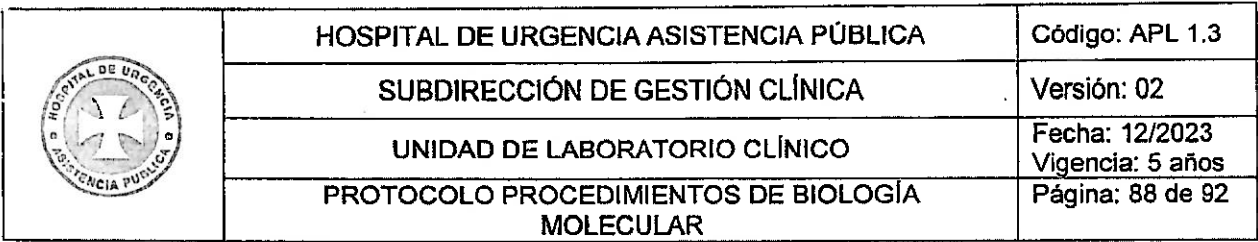
ANEXO Nº4. PLANILLA DILUCION 1:2 Y ALICUOTAS CONTROL (+) SARS-COV-2

[illegible]

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 86 de 92

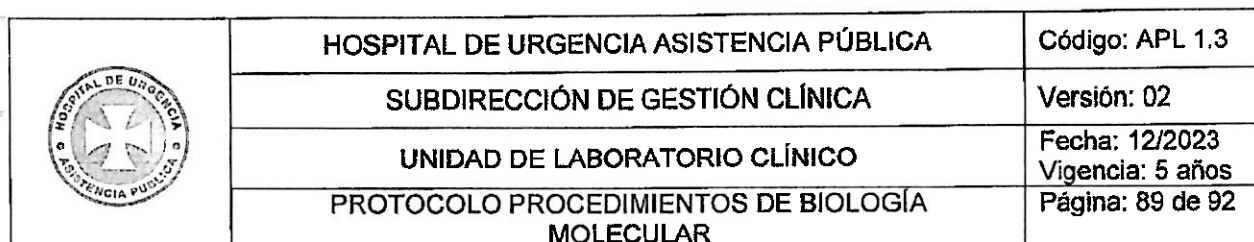
ANEXO N°5. PLANILLA REPORTE MINISTERIAL

Instrucciones		Informar cuantas muestras tenían sin procesar (en cola) el día anterior CON CORTE 00:00 A 23:59	Informar cuantas muestras recibieron del día 00:00-23:59	Informar número de muestras procesadas del día CON CORTE 00:00 A 23:59	Se calcula de acuerdo a la fórmula en la celda. No borrar	Reportar capacidad máxima teórica de procesamiento o diario	Se calcula de acuerdo a la fórmula en la celda. No borrar	Muestras procesadas con un resultado positivo del día	Información histórica total desde la llegada de la pandemia	Información histórica total de los positivos desde la llegada de la pandemia	Reportar información de insumos críticos, potenciales quiebres de stock y requerimientos generales.	
ID Laboratorio	Nombre de Laboratorio	Ciudad	Stock muestras en espera (00:00 hasta corte anterior)	# de muestras recibidas (00:00 hasta corte anterior)	# muestras procesadas (00:00 hasta corte anterior)	Stock Final muestras en espera 00:00 con corte anterior	Capacidad máxima de procesamiento o diario	Tasa de ocupación diaria (%)	# muestras positivas (00:00)	# muestras procesadas acumulados	# muestras positivas acumulados	Alerta dificultades para procesamiento de muestras
5107	Laboratorio Biología Molecular HUAP	SANTIAGO	0	8	8	0	432	1.851851852	2	38728	7882	N/A




REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPO CFX96 SERIE 787BR13311 (4629)

[illegible]



REGISTRO MANTENCION USUARIO EQUIPOS LIAT SERIES: 15517, 32845 Y 17047

[illegible]

	HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA	Código: APL 1.3
	SUBDIRECCIÓN DE GESTIÓN CLÍNICA	Versión: 02
	UNIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO	Fecha: 12/2023 Vigencia: 5 años
	PROTOCOLO PROCEDIMIENTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	Página: 92 de 92

ANEXO N°11. REGISTRO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNO TEST DE ANTIGENOS SARS – CoV-2.

CONTROL DE CALIDAD ANTIGENOS ROCHE SD BIOSENSOR							
FECHA CONTROL	LOTE AG	FECHA VENCIMIENTO	LOTE CONTROL POSITIVO	ESTADO CONTROL POSITIVO	LOTE CONTROL NEGATIVO	ESTADO CONTROL NEGATIVO	RESPONSABLE

II. **TÉNGASE PRESENTE** la vigencia de este Protocolo a contar de la fecha de la total tramitación de la presente Resolución.

III. **ESTABLÉCESE** que el señalado "*Protocolo de procedimientos de biología molecular*" debe ser el que se tenga en consideración a contar de la fecha de su entrada en vigencia.

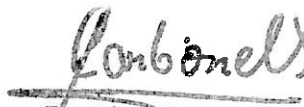
IV. **DÉJESE SIN EFECTO** toda normativa interna que diga relación con la materia de este Protocolo.

ANÓTESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE


DR. PATRICIO BARRIA AILEF
DIRECTOR
HOSPITAL DE URGENCIA ASISTENCIA PÚBLICA



- Distribución:
1. Dirección.
 2. Subdirección de Gestión Clínica.
 3. Unidad de Calidad y Seguridad del Paciente.
 4. Unidad de Laboratorio Clínico.
 5. Asesoría Jurídica.


Transcrito Fielmente
Ministro de Ec