

SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S.E

MANUAL OPERATIVO MICROBIOLOGÍA COM-LAB-CLI-MA-07 V3



 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Tabla de contenido

1.	OBJETIVO:	4
2.	ALCANCE:	4
3.	A QUIEN VA DIRIGIDO:	4
4.	DEFINICIONES:.....	4
5.	NORMATIVIDAD APLICABLE:	5
6.	RESPONSABLE:	6
7.	RECURSOS.....	6
8.	CONTENIDO DEL PROTOCOLO:.....	6
8.1.	Disposiciones generales.....	6
8.2.	Parámetros a tener en cuenta con los reactivos:	7
8.3.	Aspecto administrativo del manejo de reactivos.....	7
8.4.	Valores de referencia en el laboratorio.....	7
8.5.	Muestras requeridas.....	8
8.6.	Control de calidad	8
8.7.	Recepción y distribución de muestras de microbiología por parte del personal auxiliar.....	8
8.8.	Procesamiento de muestras por parte del profesional	9
8.9.	Muestras tomadas en sedes de la subred diferentes a Tunal:	9
8.10.	CAPITULO I: MICROBIOLOGIA GENERAL	10
8.10.1.	Muestras procesadas en microbiología general	10
8.10.2.	Cálculos para recuento celular:	11
8.10.3.	Líquidos corporales (peritoneal, pleural, ascítico, sinovial, pericárdico).....	12
8.10.4.	Parámetros a analizar:.....	13
8.11.	Cultivo de gérmenes comunes.....	14
8.11.1.	Nutrición parenteral	14
8.12.	Piel, ojos y tejidos blandos.....	14
8.12.1.	Secreción ocular	14
8.12.2.	Secreciones de piel y tejidos blandos.....	15
8.12.3.	Secreciones uretrales y vaginales	15
8.13.	Análisis de las secreciones vaginales y uretrales	16
8.13.1.	Extendido en lámina, examen en fresco (vaginal y uretral)	16
8.13.2.	Ph del flujo vaginal:.....	16
8.13.3.	Reporte de secreción vaginal y uretral	16

Nota Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.14.	Interpretación de la lectura de la secreción vaginal y uretral	18
8.15.	Técnica de siembra secreciones vaginales y uretrales	18
8.16.	Hemocultivos.....	19
8.17.	Urocultivo	22
8.18.	Coprocultivo	22
8.19.	Preparación de reactivos:	23
8.20.	Espermograma.....	23
8.21.	Muestras asociadas a micosis	26
8.22.	Pruebas rápidas en microbiología.....	28
8.22.1.	Influenza a, influenza B, RSV y adenovirus respiratorio	28
8.23.	Control de calidad de influenza a, influenza b, rsv y adenovirus respiratorio:.....	30
8.23.1.	Rotavirus adenovirus en materia fecal (prueba rápida)	31
8.24.	Interpretación de los resultados y reporte	32
8.25.	Montaje manual y automatizado de pruebas confirmatorias de resistencia bacteriana	33
8.25.1.	Montaje manual y automatizado.....	33
8.26.	Coloraciones usadas en el laboratorio de microbiología uss tunal	35
8.27.	CAPÍTULO II: MUESTRAS PROCESADAS EN MICROBIOLOGÍA ESPECIALIZADA.....	39
8.28.	Cultivo para micobacterias ácido alcohol resistente-TBC	46
8.29.	CAPÍTULO III: MICROBIOLOGÍA MOLECULAR.....	50
8.30.	Protocolo de limpieza y desinfección BD MAX.....	54
8.31.	Biofire panel respiratorio 2.1 (rp2.1) filmarray	56
8.32.	Control de calidad	60
8.33.	Capítulo IV Control de calidad CEPAS ATCC.....	63
8.34.	CAPITULO V: ALGORITMOS DE IDENTIFICACION EN MICROBIOLOGIA.....	67
	CONTROL DE CAMBIOS:.....	82

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 3 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

1. OBJETIVO:

Establecer los lineamientos necesarios a los profesionales y auxiliares del laboratorio de microbiología en relación con los aspectos técnicos relacionados en la sección, el manual se encontrará distribuido en dos secciones principales: microbiología general y microbiología especializada.

2. ALCANCE:

Desde la recepción de la muestra en la sección de Microbiología, hasta la generación de los resultados.

3. A QUIEN VA DIRIGIDO:

Este procedimiento va dirigido a los profesionales del área de microbiología, al personal auxiliar capacitado de la sección de Microbiología y a quien interese.

4. DEFINICIONES:

AGENTE BIOLÓGICO-INFECCIOSO: Cualquier microorganismo capaz de producir enfermedades cuando está presente en concentraciones suficientes (inóculo), en un ambiente propicio (supervivencia), en un hospedero susceptible y en presencia de una vía de entrada.

BIOSEGURIDAD: Describe los principios de contención, tecnologías y las prácticas en el manejo de agentes biológicos o de materiales que potencialmente puedan contenerlos y que se implementan para prevenir la exposición no intencional agentes biológicos y toxinas, o bien su liberación accidental.

ANTISEPSIA: Mecanismo o proceso para inhibir o reducir el número de microorganismos de la piel o tejidos vivos. La técnica aséptica incluye el uso de principios de asepsia, elementos de barrera y equipo estéril.

ANTISÉPTICO: Sustancia química utilizada para realizar antisepsia: clorhexidina 2-4%, yodados (jabón al 7%; solución 10%), alcohol al 70%.

ASEPSIA: Ausencia de microorganismos que pueden causar enfermedad infecciosa

BACILOSCOPIA: Es la búsqueda microscópica mediante la coloración de Ziehl Neelsen de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) en cualquier espécimen clínico.

CULTIVO DE MICOBACTERIAS: Es el método de diagnóstico bacteriológico de tuberculosis, de mayor apoyo en tuberculosis extra pulmonar; la utilización del cultivo como método diagnóstico permite la identificación posterior de la micro bacteria causal.

DESCONTAMINACIÓN: Acción que elimina o disminuye la cantidad de los agentes biológicos y sustancias químicas a un nivel seguro con respecto a la transmisión de infecciones y otros efectos adversos.

EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL: Material, (tapabocas, caretas, mascarillas) incluyendo la indumentaria (p. ej., batas, guantes, respiradores, lentes de seguridad), utilizados para evitar la exposición o la contaminación de una persona por materiales peligrosos.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 4 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

LÍQUIDOS BIOLÓGICOS: Los líquidos biológicos se definen como ultrafiltrados del plasma a través de estructuras membranosas y se reconocen tres tipos:

1. **Líquidos corporales:** como sangre, plasma, suero, orina y semen.
2. **Sustancias infecciosas:** Una sustancia que contiene un microorganismo viable, tal como una bacteria, un virus, rickettsia, un parásito, un hongo o un prión que se sabe o se cree en forma razonable que causa enfermedad en humanos o animales.
3. **Vaginosis:** Infección polimicrobiana causada por *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp* ó anaerobios, acompañada de escasa o nula reacción leucocitaria. Si se observa algún tipo de reacción leucocitaria se piensa en una infección mixta, identificar de qué se trata.

VAGINITIS: Es inflamación, por lo que hay aumento de leucocitos, puede ser inespecífica o por *Cándida spp*, si hay *Trichomonas spp* se informa vaginitis por *Trichomonas*.

ZIEHL NEELSEN: Coloración establecida por el Laboratorio Nacional de Referencia para la identificación de los bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR).

5. NORMATIVIDAD APLICABLE:

NORMA	AÑO	DESCRIPCIÓN	EMITIDA POR
Ley 44	1971	Por la cual se dictan disposiciones sobre laboratorios clínicos y se reglamenta el ejercicio de la profesión paramédica de microbiólogo, bacteriólogo y laboratoristas clínicos.	Congreso de la República de Colombia
Decreto 77	1997	Reglamenta los requisitos y condiciones técnico-sanitarias para el funcionamiento de los laboratorios clínicos, dicta definiciones, clasificación de laboratorios, exámenes, recurso humano, funciones, regula la Red Nacional de Laboratorios Clínicos, indicadores de evaluación de laboratorios, requisitos, control de gestión, toma de muestras, reactivos, garantía de calidad, control y vigilancia sanitaria, medidas de seguridad, procedimientos y sanciones.	Ministerio de salud y protección social
Resolución 1998	2010	Por medio de la cual se definen los lineamientos para la renovación de la habilitación de los prestadores de servicios de salud	Ministerio de salud y protección social
Resolución 1441	2013	Estándares de habilitación	Ministerio de salud y protección social
Resolución 1619	2015	Por el cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de Vigilancia en Salud Pública y Gestión de Calidad.	Ministerio de salud y protección social
Resolución	2018	Por la cual se adopta el "Manual de Acreditación"	Ministerio de salud y

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 5 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

5095		en Salud Ambulatorio y Hospitalario de Colombia Versión 3.1”	protección social
Resolución 3100	2019	Por la cual se definen los procedimientos y condiciones de inscripción de los prestadores de servicios de salud y de habilitación de los servicios de salud y se adopta el Manual de Inscripción de Prestadores y Habilitación de Servicios de Salud.	Ministerio de salud y protección social
Resolución 227	2020	Adopta lineamientos técnicos y operativos en el marco del Programa Nacional de Prevención y Control de la Tuberculosis (PNPCT).	Ministerio de Salud y Protección Social

6. RESPONSABLE:

Es responsabilidad de la referente de Laboratorios de la Subred Sur y su equipo de calidad, la actualización y divulgación del presente Manual o del designado por el referente del laboratorio o director de servicios complementarios. Su socialización se realizará anualmente o cuando sea necesario.

7. RECURSOS

Tecnológicos	Equipos biomédicos para procesamiento de muestras microbiológicas computadores, impresoras, Cámara de flujo laminar, Neveras, Incubadoras.
Logísticos	Muestras correctamente identificadas y con requisitos pre analíticos correctos. Medios de cultivo, paneles de identificación, insumos (Láminas porta y cubreobjeto nuevas, aplicadores de madera, mecheros, lápiz de cera (no roja), colorantes, guardianes, asas etc.). Cepas ATCC, y control de calidad externo.
Humanos	Bacteriólogos, auxiliares.

8. CONTENIDO DEL MANUAL:

8.1. DISPOSICIONES GENERALES

Los profesionales o partes interesadas (asesores, ingenieros etc.) que requieran consultar actividades técnicas relacionadas con Microbiología deben direccionarse a los insertos que se encuentran en cada sección en medio físico y/o magnético, los cuales deben estar actualizados (en medio físico con la fecha de inicio del kit en la parte superior del inserto) y organizados de tal forma que sea fácil su consulta. (Responsabilidad del líder de la sección). La AZ en medio físico está identificada como **INFORMES E INSERTOS DE MICROBIOLOGÍA GENERAL Y ESPECIALIZADA**. Los manuales de los equipos se encuentran en medio magnético en los computadores de cada sección y/o en medio físico.

Cuando el profesional recibe un reactivo para ser utilizado, inmediatamente lo vaya a utilizar, debe leer cuidadosamente el inserto y aplicar las indicaciones dadas por la casa matriz, si esta revisión genera dudas, se deben resolver con el asesor científico y de calidad del proveedor, contactando inmediatamente.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.2. PARÁMETROS A TENER EN CUENTA CON LOS REACTIVOS

- Presentación del reactivo.
- Fecha de expiración del reactivo.
- Número de lote.
- Rapidez y complejidad del método.
- Temperatura de almacenamiento, controles que se deben usar.

8.3. ASPECTO ADMINISTRATIVO DEL MANEJO DE REACTIVOS

Para un correcto funcionamiento del laboratorio es necesario:

- Llevar un control de insumos y reactivos, el cumplimiento de esta actividad se realiza mediante el seguimiento a los registros: Solicitud de reactivos e insumos de laboratorio clínico (COM-LAB-CLI-FT-17) y el Kardex de reactivos de diagnóstico in vitro (COM-LAB-CLI-FT 11); los cuales deben ser utilizados y diligenciados en su totalidad por los profesionales de Bacteriología en cada área para garantizar la continuidad de servicio y la oportunidad en los resultados; la supervisión y seguimiento de los mismos es responsabilidad de referente del laboratorio o su delegado.
- La solicitud de pedidos al proveedor a través del profesional encargado de Bodega quien realiza el pedido general de los laboratorios en el formato de Solicitud de pedidos al proveedor COM-ADI-LAB-FT-104.
- Mantener una misma línea de productos para las determinaciones clínicas, con el fin de lograr trazabilidad y experiencia de desempeño.
- Los estuches comerciales deben almacenarse semaforizados y ubicados en orden de atrás hacia adelante de acuerdo a su fecha de caducidad, tanto en las neveras como en los estantes o cajones destinados para tal fin.
- Llevar un registro de las pruebas faltantes de Descarte de insumos, reactivos, dispositivos médicos y medicamentos, para su diligenciamiento en las situaciones que lo requieran utilizando el formato (COM-LAB-CLI-FT-18)

TABLA 1- RUTA DE CONSULTA DE DOCUMENTOS

1. <http://controldocumental.subredsur.gov.co/>
2. Dar click en el proceso GESTIÓN DE SERVICIOS COMPLEMENTARIOS
3. Dar clic en APOYO DIAGNOSTICO
4. Dar click en LABORATORIO CLÍNICO
5. Ingresar a tipos de documentos: Formatos, guías, instructivos, manuales, planes, programas, protocolos, documentos externos, registros.

8.4. VALORES DE REFERENCIA EN EL LABORATORIO.

En microbiología, no se informan valores de referencia, se tiene en cuenta la negatividad o positividad e identificación de microorganismos en una muestra biológica.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.5. MUESTRAS REQUERIDAS

Las muestras dependen del sitio del cuerpo donde hay la necesidad de aislamiento de un microorganismo. Consultar Manual de toma de muestras de la secretaría de salud Para la toma de muestras se debe tener en cuenta, además, el manual COM-LAB-CLI-MA-01 TOMA DE MUESTRAS LABORATORIO CLÍNICO, el cual se puede consultar en la página web de la subred **Ver tabla 1**

8.6. CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar la validez de los resultados, se requiere de un control de calidad interno para evaluar la concordancia. Todos los profesionales del laboratorio deben aplicar el protocolo COM-LAB-CLI-MA-05 (MANEJO DE CONTROL DE CALIDAD INTERNO Y EXTERNO) y el procedimiento de Garantía de Calidad en el Laboratorio Clínico los cuales se pueden consultar en la página web de la subred. **Ver tabla 1.**

En la sección de Microbiología se deben llevar los siguientes registros que aportan a la calidad del servicio:

- COM-LAB-CLI-FT-31 Control de calidad coloración Baciloscopias
- COM-LAB-CLI-FT-32 Control de calidad coloración de Gram
- COM-LAB-CLI-FT-33 Control de calidad de Hemocultivos
- COM-LAB-CLI-FT-34 Control calidad medios de Cultivo
- COM-ADI-LAB-FT-13 Control de Sensidiscos
- COM-LAB-CLI-FT-36 Mantenimiento Phoenix
- COM-LAB-CLI-FT-35 Mantenimiento Bactec Fx
- COM-LAB-CLI-FT-37 Mantenimiento Mgit
- COM-ADI-LAB-FT-51 Exámenes remisionados al laboratorio de salud pública
- COM-LAB-CLI-FT-38 Mantenimiento cámara de flujo laminar
- COM-LAB-CLI-FT-04 Limpieza de Microscopios

El mantenimiento de los equipos debe registrarse diariamente en los formatos o listas de chequeos establecidos.

8.7. RECEPCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS DE MICROBIOLOGÍA POR PARTE DEL PERSONAL AUXILIAR

Antes de recibir y distribuir una muestra en microbiología es necesario organizar las actividades de la siguiente forma:

1. Revisar cuidadosamente la solicitud médica para verificar datos demográficos e información relacionada con el estudio requerido, el sitio anatómico donde se debe tomar la muestra, el diagnóstico clínico presuntivo y el uso de antibióticos o no.
2. Verificar en la muestra: Nombre completo del paciente, edad, documento de identidad, servicio, habitación, USS, tipo de muestra, sitio anatómico, fecha y hora de recolección e iniciales de la persona que obtiene la muestra.
3. El transporte al sitio de procesamiento debe ser preferiblemente antes de una hora. (Requieren procesamiento inmediato las muestras para aislamiento de *Shigella spp*,

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae). Todas las USS diferentes a Tunal deben guiarse por el manual COM-ADI-LAB-MA-02 Transporte Conservación y Remisión De Muestras.

4. Ingresar los datos del paciente y los exámenes a realizar en el sistema de información del laboratorio clínico de acuerdo al consecutivo establecido comparando que la información de cada una de las solicitudes médicas y de la muestra sean correctas y coincidan.
5. Preparar las muestras que lo requieran antes de llevarlas al sitio de procesamiento ej. Líquidos que deban ser centrifugados.
6. Pegar los stickers en cada muestra previa verificación cruzada, muestras, solicitud, stickers.
7. Pegar los stickers en el cuaderno de microbiología, en el orden en que llegan las muestras, realizar las anotaciones requeridas, al frente de cada sticker.

8.8. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS POR PARTE DEL PROFESIONAL

1. Inocular y realizar la siembra en los medios de aislamiento de acuerdo al tipo de muestra, Realizar los extendidos y las preparaciones necesarias de cada muestra.
2. Cada 24 horas de incubación, realizar la lectura de los medios sembrados. Detectar visualmente el crecimiento bacteriano.
3. Luego de la lectura de cajas, programar la conducta a seguir de acuerdo al crecimiento.
4. Proceder al montaje de los paneles.
5. Realizar la lectura de los paneles del día anterior para la identificación y pruebas
6. de susceptibilidad de los aislamientos
7. Verificar que la información correcta quede registrada en el sistema para la consulta por el personal médico o para que el resultado pueda ser impreso y entregado a los usuarios de consulta externa.

Reporte de alertas críticas:

Notificar reportes de resultados que se encuentren fuera de los parámetros de referencia establecidos para cada analito en el respectivo formato de alertas críticas y exámenes priorizados del laboratorio clínico cuando aplique. remitirse al registro de reporte de alertas críticas de laboratorio clínico (COM-ADI-LAB-FT-92).

8.9. MUESTRAS TOMADAS EN SEDES DE LA SUBRED DIFERENTES A TUNAL:

Al recibir la muestra proveniente de puntos de toma de muestras y los diferentes laboratorios de la subred se realiza la verificación de la solicitud médica disponible en el del sistema del Laboratorio, verificando, además, condiciones de ingreso, calidad de la muestra, identificación correcta, condiciones correctas de toma y envío oportuno a procesamiento.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.10. CAPITULO I: MICROBIOLOGIA GENERAL

8.10.1. Muestras procesadas en microbiología general

Cultivo de líquidos corporales estériles

Líquido cefalorraquídeo

- **Muestra requerida:**

El examen de LCR forma parte indispensable del diagnóstico de meningitis, debido a la necesidad urgente de administrar una terapia antimicrobiana apropiada cuando se identifica el verdadero agente etiológico y reducir las serias complicaciones que pueden ser fatales en muchas ocasiones.

- **Toma de muestra:**

La muestra es tomada por personal médico especializado bajo los criterios contenidos en las guías prácticas clínicas institucionales vigentes.

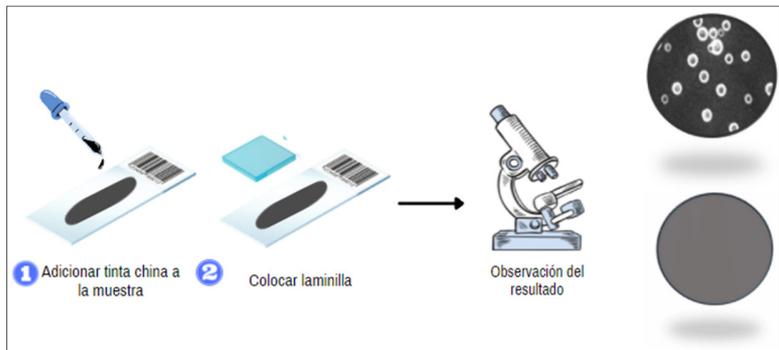
- **Técnica:**

1. Inmediatamente la muestra sea recibida, se procede con el examen físico (color, aspecto, xantocromía), luego se realiza el conteo celular en Cámara de Neubauer para informar los elementos formes por mm³.
2. Posteriormente se centrifuga por 15 minutos a 1800 rpm con el objeto de concentrar los microorganismos presentes.
3. El sedimento se siembra por concentración sobre placas de A sangre, A chocolate, A. MacConkey y en caldo nutritivo BHI una alícuota. Se elaboran 3 láminas, una para **coloración de Gram***, una para **coloración de Ziehl Neelsen**** y un directo entre lámina y laminilla con tinta china comercial, para visualizar la cápsula de Cryptococcus neoformans, que se observa con baja intensidad de luz con objetivo seco; con el sobrenadante se realiza el examen químico, se realizan mediciones de glucosa, proteínas, y si el médico lo solicita, adicionales pruebas serológicas.
4. Determinación de glucosa (utilizar técnica glucosa en suero)
5. Proteínas totales (utilizar la técnica proteínas en orina) dependiendo las técnicas y equipos implementados en el laboratorio de química sanguínea.
6. Se realizan otras adicionales a solicitud del médico según el diagnóstico.

- **Tinción negativa para LCR:**

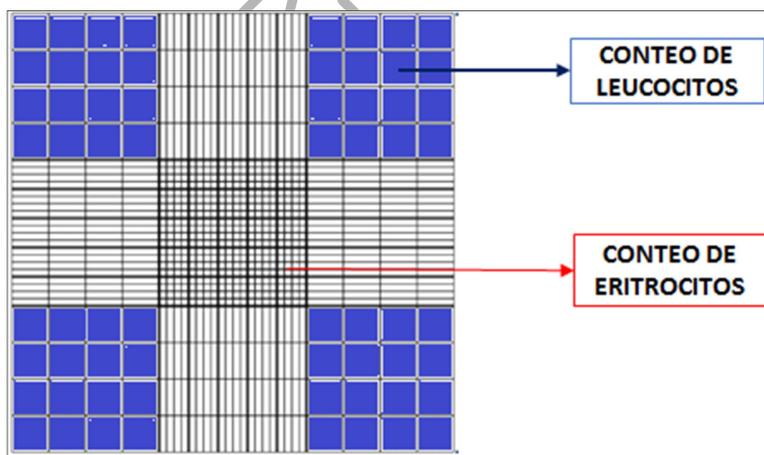
Emplear una gota (50 µl) de la muestra en la lámina, posteriormente agregar una gota de tinta china (50µl), poner laminilla, dejar secar y observar al microscopio con un objetivo seco (40x).

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3



8.10.2. Cálculos para recuento celular:

Se utiliza la cámara de Neubauer con el líquido total (sin centrifugar). Se deja sedimentar por dos minutos y se hace el recuento celular (leucocitos y eritrocitos) en toda la cámara. Si el recuento celular es incontable se realiza dilución con solución salina (la dilución depende del criterio del bacteriólogo y luego de realizar el conteo se procede a multiplicar por el factor de dilución).



Para realizar los cálculos, se tiene en cuenta que en los 4 cuadrantes de las esquinas superiores e inferiores de la cámara se llevará a cabo el conteo de leucocitos, y para el conteo de eritrocitos, se tiene en cuenta los cuadrantes del centro de la cámara.

Los cálculos mencionados y conteo en cámara aplican de igual manera para los demás líquidos corporales.

Cuando se tiene poca celularidad, se debe leer en toda la cámara; la fórmula para este caso sería:

→ Total de la cámara= # de células X mm³

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Si la lectura se hizo en los 4 cuadrantes grandes superiores e inferiores la fórmula sería:

→ Los 4 cuadrantes= **# de células / 4 X 10** (donde 10 es la profundidad de la cámara)

Lectura en un cuadro de la cámara

→ Lectura en un cuadro= **# de células X 16 X 10**

Lectura en un cuadrante de 16 cuadros de la cámara

→ Lectura en un cuadrante de 16 cuadros= **# de células X 10**

Una vez realizado el análisis del líquido se procede a realizar su reporte teniendo en cuenta lo siguiente (parámetros y unidades de medida):

8.10.2.1. Reporte de resultado:

Aspecto: transparente – incoloro.

Células: 0 - 10.

Glucosa: 50 – 80 mg/dl (LCR = 40 – 80% de la glicemia)

Proteínas: 15 – 45 mg/dl.

8.10.3. Líquidos corporales (peritoneal, pleural, ascítico, sinovial, pericárdico)

- **Muestra requerida:**

Los líquidos biológicos deben ser tomados en tubos de vidrio estériles:

- ✓ Uno heparinizado o citratado para realizar el examen citológico.
- ✓ Un segundo tubo seco estéril para cultivo microbiológico.

- **Principio del método:**

Los líquidos biológicos, son ultrafiltrados que cobran importancia clínica, dada su íntima relación con los principales sistemas fisiológicos y su estudio suministra datos influyentes en entidades patológicas generales. En el Laboratorio clínico se realiza principalmente el análisis físico, químico, citológico y microbiológico, dependiendo además de la procedencia del líquido.

- **Toma de muestra:**

La muestra es tomada por personal médico especializado bajo los criterios contenidos en las guías prácticas clínicas institucionales vigentes.

- **Transporte y almacenamiento:**

La muestra debe ser llevada inmediatamente al Laboratorio clínico, y debe ser procesada en el momento de recibido o dentro de las dos horas posteriores. No deben ser refrigerados,

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

congelados, ni puestos en incubación para posteriormente analizarse, debido a que esto puede causar falsos resultados.

8.10.4. Parámetros a analizar:

Nota aclaratoria: Para líquido pericárdico no se realiza examen citoquímico.

Examen físico:

Se realiza en el tubo heparinizado o citratado antes de ser centrifugado. Se tiene en cuenta:

- **Color:** Depende del líquido
- **Aspecto:** Depende del líquido
- **Recuento celular:** se realiza en cámara de Neubauer y se informa el número de células por mm³.
- Si el número de leucocitos es superior a 9, se debe realizar una dilución, luego de realizar el conteo se procede a multiplicar por el factor de dilución.
- **Glóbulos rojos:** Tiene importancia siempre y cuando se demuestre que provienen de procesos patológicos, se puede hacer una dilución con solución salina fisiológica 1/10 y su recuento se hace en cámara de Neubauer, el número de hematíes observados, se multiplica por el factor de dilución, y se informan hematíes por mm³.
- **Recuento diferencial:** se realiza sobre un extendido coloreado con Wright, informando el porcentaje de neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, etc.

Examen químico:

Centrifugar la muestra del tubo heparinizado, citratado o del tubo para el examen microbiológico, con el sobrenadante realizar:

- Determinación de glucosa (utilizar técnica glucosa en suero), Proteínas totales y albúmina (utilizar la técnica proteínas en suero). Dependiendo de las técnicas y equipos implementados en el laboratorio de química sanguínea.
- Otras adicionales a solicitud del médico según el diagnóstico.

Examen microbiológico:

- Para realizar el Gram de la muestra, es necesario centrifugar.
- Coloración de Gram: Leer e informar incluyendo descripción bacteriana y la reacción leucocitaria. **REPORTE INMEDIATO.**
- Coloración de Z.N: Leer buscando BAAR e informar resultado.
- Sembrar el sedimento en medios de cultivo primario: A. sangre, A. chocolate, caldo de enriquecimiento BHI o Tioglicolato.

MEDIO DE CULTIVO IMPLEMENTADO SEGÚN EL LÍQUIDO	
Líquido pleural	Agar sangre, Agar chocolate, Agar MacConkey, Caldo BHI.
Líquido sinovial	
Líquido ascítico	
Líquido pericárdico	Agar Sangre, Agar MacConkey.
Líquido peritoneal	

Nota Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 13 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Incubar a 37°C por 72 horas.
- Sembrar en otros cultivos a solicitud del médico, como MGIT, Löwenstein-Jensen para BAAR, cultivos para hongos, Sabouraud, etc.
- Realizar identificación y antibiograma del microorganismo aislado.

8.11. CULTIVO DE GÉRMENES COMUNES

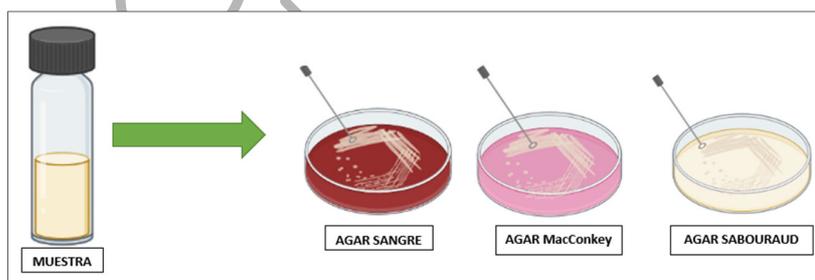
8.11.1. Nutrición parenteral

- **Muestra requerida:**

Alimentación parenteral lista para consumo

- **Técnica:**

Se siembra en un medio para hongos (Sabouraud), Agar sangre y Agar MacConkey. Se procesa de acuerdo a los aislamientos logrados.



- **Reporte de resultado:**

Crecimiento de colonias lactosa negativa, (el producto es estéril, por ende, no debe obtenerse crecimiento de ningún microorganismo).

8.12. PIEL, OJOS Y TEJIDOS BLANDOS

- **Muestra requerida:**

Secreciones de piel, ojos y tejidos blandos.

- **Toma de muestra:**

Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

- **Técnica:**

Se siembra en medios para gérmenes comunes: Agar sangre, Chocolate y MacConkey y se procesa de acuerdo a los aislamientos logrados.

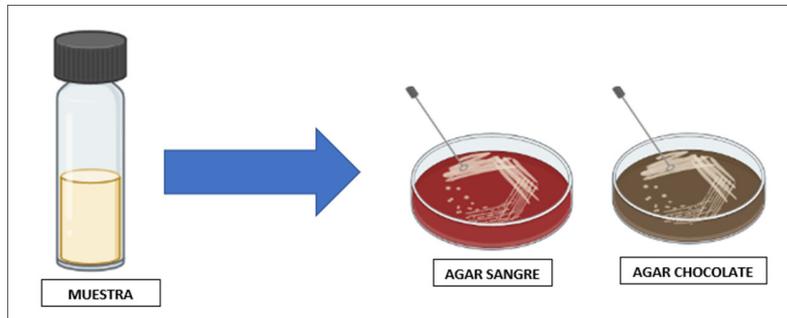
8.12.1. Secreción ocular

Tipo de muestra:

- Secreción conjuntival

	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Raspado corneal
- Aspirado de fluido vítreo



Nota: Las muestras líquidas se siembran directamente en los medios.

8.12.2. Secreciones de piel y tejidos blandos

- Abscesos de piel
- Heridas superficiales o profundas
- Forúnculos
- Quistes infectados

- Tejidos



Nota: Si la muestra es sólida, se enriquece en caldo BHI o Tioglicolato, se incuba por 4 horas y se procede a sembrar en medios sólidos como se mencionaron anteriormente.

8.12.3. Secreciones uretrales y vaginales

Tipo de muestra

- **Mujer:** Flujo vaginal.
- **Hombre:** Secreción del canal uretral y/o de las lesiones que se puedan observar.

Toma de muestra:

Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Nota 1: Se recomienda tomar dos o tres escobillones, uno para el extendido que se realiza en una lámina nueva, perfectamente identificada y el segundo escobillón se coloca en un tubo con 1 ml de solución salina estéril.

Si el caso lo amerita realizar cultivo, para esto se emplea el tercer escobillón que se siembra directamente en el medio de cultivo Agar sangre y Agar chocolate, no es recomendable utilizar ningún medio de transporte.

Nota 2: Procesar en el menor tiempo posible, no utilizar medios de transporte, para evitar pérdida de actividad de los microorganismos, *Trichomonas spp*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*.

8.13. ANÁLISIS DE LAS SECRECIONES VAGINALES Y URETRALES

8.13.1. Extendido en lámina, examen en fresco (vaginal y uretral)

- Láminas previamente marcadas, se fijan con calor y se colorea con Gram.
- Se observa al microscopio en objetivo de 100x y reportar lo observado microscópicamente.
- Se pueden observar las células guías, (células epiteliales vaginales con apariencia irregular y borde indefinido) debido a que la *Gardnerella vaginalis* se adhiere a la superficie de la célula y enmascara su contorno, cuando estas representan del 10% al 20% de las células epiteliales vaginales, se considera un criterio diagnóstico de Vaginosis bacteriana.
- Se realiza en una lámina la adición de la muestra con solución salina, cubierta con una laminilla.
- Se observa el microscopio en objetivo de 40x. Allí se evidencia microscópicamente la presencia de *Trichomonas spp*, Blastoconidias o *pseudomicelios*, hematíes y leucocitos.
- Se puede determinar la presencia de *Trichomonas spp* por su movimiento ondulante característico.

8.13.2. Ph del flujo vaginal:

El flujo presente en la vaginosis tiene un pH > 4.5 debido a la disminución de los Lactobacilos y por lo tanto del ácido láctico. Otro factor que hace que aumente el pH es la presencia de aminas, debido a la descarboxilación de los aminoácidos por bacterias anaerobias. Seguir el procedimiento descrito en el inserto adjunto al reactivo disponible.

8.13.3. Reporte de secreción vaginal y uretral

8.13.3.1. Reporte fresco de secreción vaginal

Células Guía	Positivo o negativo
Trichomonas	Positivo o negativo
Hematíes	Número por campo
Leucocitos	Número por campo
Estructuras micóticas	Presentes o ausentes

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 16 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.13.3.2. Reporte fresco de secreción uretral

<i>Trichomonas spp.</i>	Positivo o negativo
Hematíes	Número por campo
Leucocitos	Número por campo
Estructuras micóticas	Presentes o ausentes

8.13.3.3. Reporte de GRAM en secreción vaginal y uretral

- **GRAM de secreción vaginal**

Hematíes	Número por campo
Leucocitos	Número por campo
Bacilos Gram positivos	Por cruces
Bacilos Gram negativos	Por cruces
Diplococos Gram negativos intracelulares	Ausencia/ presencia
Diplococos Gram negativos extracelulares	Ausencia/ presencia
Cocobacilos Gram variables	Por cruces

- **GRAM de secreción uretral**

Hematíes	Número por campo
Leucocitos	Número por Campo
Blastoconidias	Presente o ausente
Pseudomicelios	Presente o ausente
Diplococos Gram negativos intracelulares	Ausencia/ presencia
Diplococos Gram negativos extracelulares	Ausencia/ presencia

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.14. INTERPRETACIÓN DE LA LECTURA DE LA SECRECIÓN VAGINAL Y URETRAL

8.14.1. Lectura de secreción vaginal

- Vaginosis bacteriana
- Se sugiere cultivo
- Vaginitis por Cándida
- Vaginitis por Trichomonas
- Vaginitis inespecífica
- Frotis vaginal normal

Nota: En coloración de Gram no se informa agente causal sólo lo que se ve, por ej. Bacilos Grampositivos, no Lactobacilos.

Ejemplos

- Abundante reacción leucocitaria: Cocobacilos Gram variables. Vaginosis bacteriana - vaginitis inespecífica.
- Escasa reacción leucocitaria: Bacilos Gram positivos. Pseudomicelios. Vaginitis por Cándida
- Moderada reacción leucocitaria: Bacilos Gram positivos. Vaginitis inespecífica

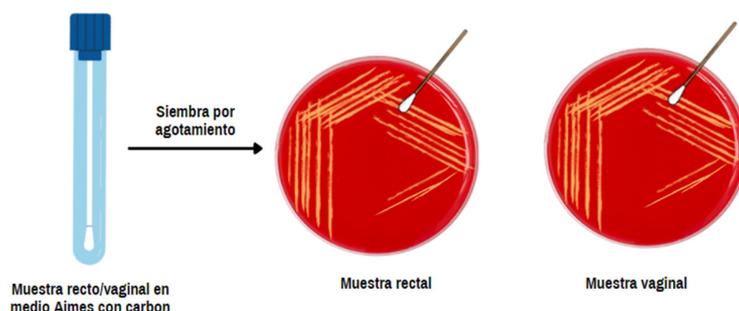
8.14.2. Interpretación de la lectura de la secreción uretral

Se sugiere cultivo si hay presencia de Diplococos Gram negativos intra o extracelulares.

8.15. TÉCNICA DE SIEMBRA SECRECIONES VAGINALES Y URETRALES

8.15.1. Cultivo de rectovaginales (gestantes)

- Sembrar las dos muestras (Rectal/Vaginal) por agotamiento en Agar Sangre preferiblemente, ó Agar Cromogénico.
- Marcar debidamente las dos cajas con las muestras tanto Rectal como Vaginal, registrar en el libro de Cultivos y llevar a incubar a 36°C.

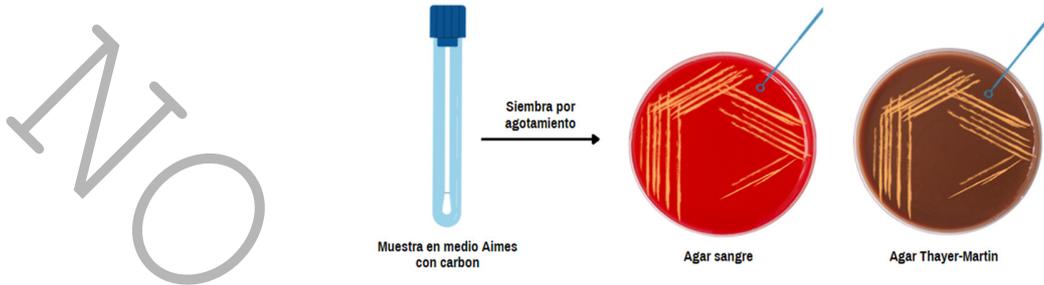


Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 18 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD <small>Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</small>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.15.2. Cultivo secreción vaginal, uretral

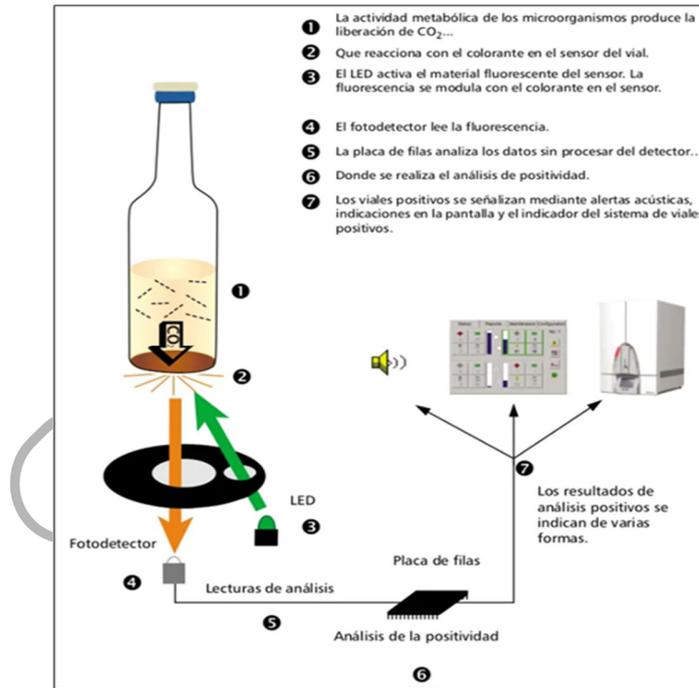


8.16. HEMOCULTIVOS

Muestra requerida: Sangre total

8.16.1. Principio del método:

- La muestra a analizar se inocula en una botella de hemocultivo que se introduce luego en el equipo de la serie fluorescente para la incubación y la lectura periódica. Cada botella contiene un sensor que puede detectar aumentos del CO₂ producidos por el crecimiento de microorganismos.
- Cada diez minutos el instrumento verifica el aumento de la fluorescencia del sensor, la que se relaciona con la cantidad de CO₂ presente.
- Un resultado positivo indica la presencia presuntiva de microorganismos viables dentro del frasco. La detección se limita a los microorganismos capaces de desarrollarse en un determinado tipo de medio.
- Si existen microorganismos en la muestra inoculada, éstos metabolizan los sustratos en el frasco y producirán CO₂. La mayor fluorescencia del sensor en el frasco producida por el aumento del CO₂ es verificada por el instrumento.



8.16.2. Toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

➤ **Técnica:**

- Una vez tomadas las muestras de sangre, las botellas de hemocultivo se deben incubar a 37°C, durante cinco días en equipo automatizado.
- Estos indicadores del sistema proporcionan información acerca del estado del equipo

Color del indicador	Estado	Significado
Amarillo: indicador luminoso sincronizado para todo el instrumento	Encendido	Alerta del sistema (el indicador permanece encendido hasta que la condición se corrige o se trata). Consulte la sección 7 para obtener más información.
Verde: un indicador luminoso para cada cajón izquierdo y derecho	Encendido	Vial negativo fuera de protocolo (el indicador permanece encendido hasta que todos los viales negativos se retiran mediante la función Retirada de negativos).
Rojo: un indicador luminoso por cada cajón izquierdo y derecho	Encendido	Vial positivo (el indicador permanece encendido hasta que todos los viales positivos se retiran mediante la función Retirada de positivos).

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3



Color del indicador		Estado	Significado
Rojo		Intermitente	Vial positivo
Verde		Intermitente	Vial negativo
Amarillo		Intermitente	Vial anónimo
Rojo y amarillo (luces alternas)		Intermitente	Vial anónimo positivo
Todos los indicadores		Apagado	Vial en curso/estación inutilizable
Verde		Encendido	Estación disponible

- Inmediatamente haya alguna evidencia de positividad debe obtenerse una pequeña muestra del hemocultivo con aguja y jeringa estéril para hacer un subcultivo sobre placas de Agar chocolate, Agar MacConkey, adicionalmente se realiza frotis directo para coloración de Gram en una lámina, la cual deberá ser reportada en el sistema.

8.16.3. Reporte de resultado

Se reportan preliminares a las 24, 48,72 y 96 horas hasta completar los cinco días de incubación, en caso de que exista un vial positivo, se realiza identificación y susceptibilidad.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.17. UROCULTIVO

Muestra requerida: Orina.

Principio del método:

Recuperación del agente etiológico, de la infección urinaria. (es positiva en un alto porcentaje (80%-95%) tanto en hombres como en mujeres, cuando la muestra ha sido recolectada correctamente).

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

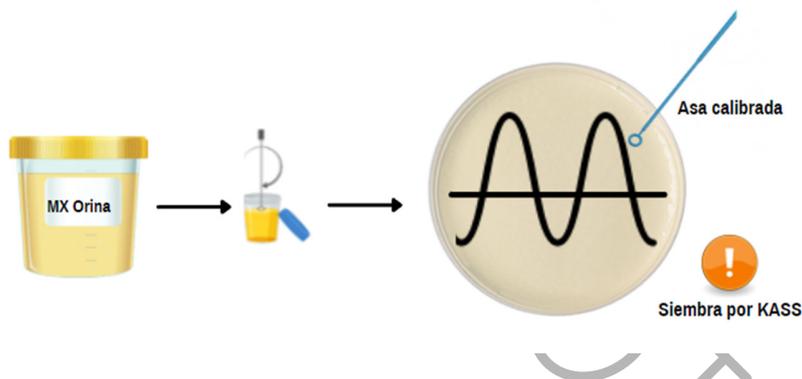
Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02)

Preparación de reactivos:

- Asa calibrada 1 μ l.
- Cajas con medio de cultivo Cromagar urocultivo.

Técnica: Se siembra con asa calibrada de 1 μ l, a través de la técnica de Kass, En Cromagar, si se tiene un crecimiento se realizan las pruebas de identificación y susceptibilidad.

Incubar 48 horas a 37°C.



8.18. COPROCULTIVO

Muestra requerida: Materia fecal.

Principio del método: La recolección y preservación de muestras de heces para cultivos es a menudo dispendiosa pero necesaria para el aislamiento de microorganismos causantes de procesos infecciosos gastrointestinales.

Se utilizan medios selectivos para el aislamiento de microorganismos clínicamente importantes.

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02).

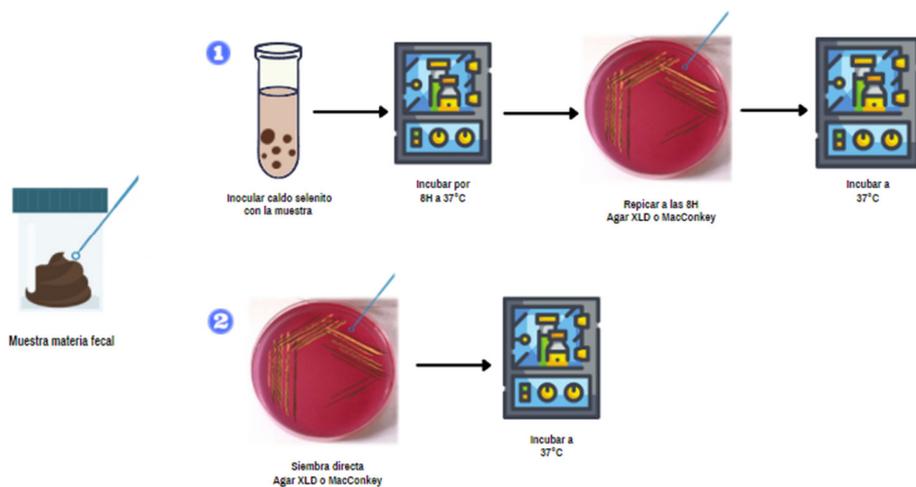
 <p>ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E</p>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.19. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Medios específicos: Preferiblemente Agar XLD y caldo de Selenito para enriquecimiento de la muestra.

Técnica:

- Sembrar de la muestra directa con asa redonda en el agar por agotamiento.
- Tomar un asa redonda y depositar una pequeña porción de materia fecal en el caldo selenito, incubar 8h a 36°C y posterior a esto realizar el repique en el medio XLD con una siembra por agotamiento.
- Las colonias que se buscan son Salmonella y Shigella, de modo que a las 24h o 48h, si la muestra tiene el microorganismo este deberá hacerse presente.
- Posterior al crecimiento, realizar montaje de identificación y antibiograma según la metodología disponible



8.20. ESPERMOGRAMA

El informe debe incluir la siguiente información preliminar

- Fecha y hora de la toma de la muestra.
- Nombre completo del paciente.
- Edad.
- Documento de identidad.
- Tiempo de abstinencia

Muestra requerida: Semen.

Principio del método: Investigación sobre:

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Fertilidad de una pareja
- Estudios de patología clínica
- Aspectos médico legales.
- Eficacia de una vasectomía.
- Para apoyar o desaprobar la negación de una paternidad.

Método de toma de muestra:

Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico), las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el manual de la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana

Preparación de reactivos:

- Probetas o tubos graduados estériles.
- Láminas- laminillas.
- Guantes
- Gradilla
- Cámara de Neubauer
- Tiras reactivas de pH
- Colorante de Wright

8.20.1. Examen macroscópico inicial

- **Color:** Normalmente es blanco opalescente, alteraciones en el color indican la presencia de sangre, leucocitos, bacterias, ingesta de medicamentos y/o vitaminas.
- **Aspecto:** El semen recién eyaculado, es un coágulo muy viscoso, opaco, blanco o grisáceo claro, que puede tener un olor mohoso u ocre, luego de 10 a 20 minutos, que se produzca la licuefacción, el semen es fluido, con mayor opacidad según el número de espermatozoides y elementos celulares.
- **Licuefacción:** Una muestra de semen normal se licúa dentro de los 60 minutos de la eyaculación a temperatura ambiente, aunque esto suele ocurrir dentro de los primeros 15 minutos por la acción del antígeno prostático-específico. En algunos casos, la licuefacción no es completa a los 60 minutos, y esto debe ser informado; pero dado que su traslado puede demorarse hasta 1 hora, la OMS sugiere que todas las muestras sean evaluadas a los 60 minutos post obtención.

Las muestras de semen normal pueden contener gránulos gelatinosos que no se licuan y que no parecen tener significación clínica alguna. La presencia de hilos de moco puede interferir con el análisis del semen

- **Volumen:** El volumen normal de un eyaculado, transcurridos entre 3 y 5 días de abstinencia sexual, se encuentra en el rango comprendido entre 1.5 y 6 mL. Un volumen inferior se denomina Hipospermia, mientras que un volumen superior es Hiperespermia. La ausencia de esperma se cataloga como Aspermia.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Se mide en probeta o tubo de centrifuga graduado y estéril.

- **Consistencia:** La consistencia de la muestra licuada (a menudo denominada viscosidad), puede ser estimada aspirando la muestra con una pipeta de 5 ml y permitiendo la libre caída de las gotas, en la que se observa la longitud del fundamento formado.

- **pH:** valor normal está entre 7,2 y 7,8.

Por encima de 7,8 posible infección, anormalidad de la función secretora de la próstata.

Por debajo de 6,5 o 7,0 en una muestra sin espermatozoides, anormalidades de las vesículas seminales.

8.20.2. Recuento de espermatozoides:

- Motilidad
 - Vitalidad
 - Recuento
 - Morfología de espermatozoides
- a. La concentración de espermatozoides puede calcularse, realizando una dilución 1:20 con cada muestra homogénea, mezclando bien 50µl de semen licuado con 950µl de solución salina.
 - b. La muestra diluida se mezcla bien y luego se pasa una gota a la cámara de Neubauer y se cubre con el cubreobjetos, se deja en reposo 5 minutos, en este tiempo las células se sedimentan y luego se cuenta con microscopio óptico en objetivo 40x.
 - c. Solo se cuentan los espermatozoides (células germinales morfológicamente maduras con colas) los espermatozoides sin cabeza y los cabezas sin cola no se cuentan.
 - d. Se cuentan dos cuadrantes de los destinados al recuento de glóbulos blancos y se calcula un promedio de ambos recuentos, siempre que la diferencia no exceda 10%.

Para determinar la concentración de espermatozoides en millones/ml del semen original, se divide el promedio del recuento por el factor de conversión (dilución).

8.20.3. Cálculos:

En la determinación del volumen se utiliza un tubo graduado observando los mililitros registrados; para la determinación del pH se utilizan tiras reactivas, como se describió anteriormente y para valorar el número total de espermatozoides se cuenta en dos cuadrantes (retículos para el recuento de glóbulos blancos) y se multiplica el número obtenido por 100.000.

8.20.4. Reporte de resultado:

El volumen se expresa en mililitros (ml), el pH por los valores registrados en la tira reactiva, licuefacción y coagulación en minutos.

Los parámetros de motilidad, morfología y vitalidad en porcentaje y el recuento total de espermatozoides en millones/ml.

 <p>ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</p>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- **Volumen** 2.6 a 6 mL
- **pH** 7.2 a 7.8
- **Licuefacción** completa a los 15 minutos
- **Motilidad:** mínimo de formas móviles 75%
- **Morfología:** mínimo de formas normales 60%
- Vitalidad a las 6 horas 90%
- Vitalidad a las 12 horas 50%
- Vitalidad a las 24 horas 10%
- **Recuento:** un mínimo de 55 millones/mL

8.21. MUESTRAS ASOCIADAS A MICOSIS

Muestra requerida: Muestras de piel, uñas, pelo, áreas de predilección por las especies micóticas.

Principio del método: En el diagnóstico de las micosis, es de vital importancia la observación directa de la muestra, la que puede orientar los medios de cultivo adecuados para proporcionar al médico una rápida identificación presuntiva.

- La observación directa se realiza con hidróxido de Potasio al 10-20% cuya función es aclarar el material celular de fondo e intensifica el contraste de las estructuras fúngicas con otros materiales presentes en el preparado microscópico.
- El medio de cultivo empleado es el agar Sabouraud con cloranfenicol, que inhibe el crecimiento del microbiota bacteriano asociada y permite el crecimiento selectivo de hongos.
- La temperatura de incubación es de 25-30°C para dermatofitos y de 35-37°C para muestras sistémicas, en dimórficos realizar un subcultivo a 37°C. Debe incubarse mínimo 30 días antes de considerarse negativo.

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico).

Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02).

Preparación de reactivos:

- Láminas nuevas
- Hidróxido de Potasio al 20%.
- Lancetas estériles
- Cajas de Petri
- Centrífuga
- Microscopio
- Medios de cultivo

Nota Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10

 <p>ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E</p>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Técnica

Examen directo:

- Las muestras de consistencia líquida y relativamente claras, pueden examinarse directamente al microscopio, los materiales densos y opacos, como escamas de piel, raspados de uñas y pelo, se emulsionan con una o dos gotas de KOH 10-20% sobre una lámina portaobjeto.
- En caso de tener como muestra uñas completas estas pueden ser fraccionadas en trozos, añadir KOH a una porción y el resto ser cultivado directamente si es necesario.
- La mezcla con KOH se debe incubar durante 15 minutos (permite la digestión del material), cubrir con cubreobjetos y examinar.
- Observar en objetivo 10x y luego 40x.



Cultivo:

Se emplea para el aislamiento Agar Sabouraud con cloranfenicol, para la mayoría de hongos patógenos para el hombre. LAS MUESTRAS EN QUE SE PUEDEN AISLAR ESTE TIPO DE ORGANISMOS SON:

Médula ósea:

La muestra se siembra en varias placas de agar infusión cerebro corazón y agar glucosado de Sabouraud y la aguja con la que se tomó la muestra, se inoculara en caldo BHI y se incubará durante 4 semanas.

Lavado gástrico:

- Centrifugar la muestra a 2.500 rpm por 30 minutos.
- Decantar el sobrenadante.
- Sembrar 0.1 ml. de sedimento en el medio de cultivo.
- Montar KOH con el sedimento y observar

LCR:

- Centrifugar a 2.000 RPM por 15 minutos.
- Decantar sin descartar el sobrenadante y montar lámina con el sedimento

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Realizar una preparación con tinta china y observar al microscopio.
- Sembrar en agar glucosado de Sabouraud, sin antibióticos.
- Resuspender el sedimento restante y sembrar en caldo BHI.

Reporte de resultado

Aislamiento, panel de identificación susceptibilidad; fungigrama se remite a laboratorio externo.

8.22. PRUEBAS RÁPIDAS EN MICROBIOLOGÍA

8.22.1. Influenza A, influenza B, RSV y adenovirus respiratorio

Muestra requerida: Hisopados nasofaríngeos, esputo, aspirado o lavado nasofaríngeo

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento: Las muestras deben ser procesadas lo más pronto posible tras su recolección, si esto no fuera posible, las muestras pueden ser almacenadas en la nevera de 2-8° C durante 8 horas antes de realizar la prueba. En caso de las muestras provenientes de puntos de red deben ser transportadas según manual de transporte de muestras COM-ADI-LAB-MA-02

Principio del método:

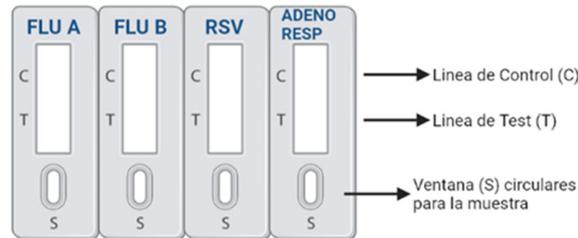
CerTest Influenza A+B+RSV+Adeno Resp. es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de la Influenza tipo A, de influenza tipo B, de RSV y de Adenovirus a partir de muestras de hisopos, lavados o aspirados nasofaríngeos. Las membranas de nitrocelulosa en cada uno de los casets, tiene fijados anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos específicos de cada uno de los virus correspondientes, en la línea del test (T), en la ventana de resultados, y en a lineal del control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado: una preparación de reactivos para la línea de test con anticuerpos monoclonales de ratón frente al virus respectivo conjugado con látex de poliestireno, lo que permite que se formen complejos coloreados cuando la muestra corre por la membrana de nitrocelulosa

Preparación:

- CerTest influenza A+B+RSV+Adeno Resp. Combo card test
- Tubo para dilución de muestra con diluyente
- Pipetas desechables
- Tubos de ensayo
- Instrucciones de uso

Procedimiento de la prueba y montaje de la muestra:

PASO 1

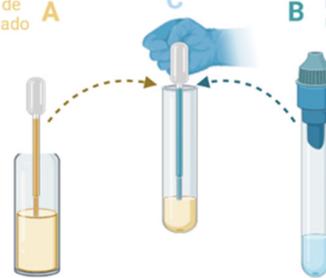


PASO 2

Añadir 6 gotas de la muestra a un tubo de ensayo proporcionado por el test

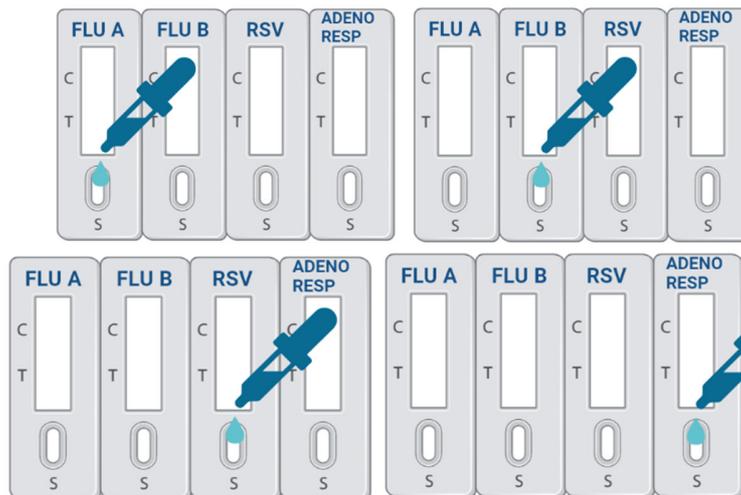
Homogeneizar con la pipeta pasteur durante 1 minuto

Añadir 9 gotas del buffer diluyente al mismo tubo de ensayo



Adicionar 4 gotas de la muestra homogeneizada con el buffer diluyente en cada una de las ventanas (S) circulares para la muestra, de cada una de las pruebas.

PASO 3



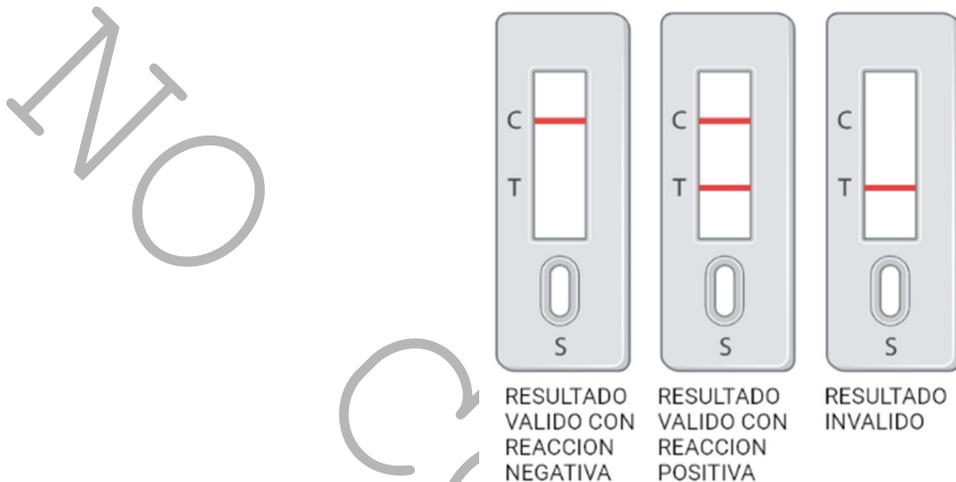
Procedimiento tomado de CERTEST Influenza A+B+RSV+AdenoResp. https://www.certest.es/wp-content/uploads/2019/02/IU-ZV86-rev00_Influenza_A_B_RSV_Adeno-resp_02.pdf

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 29 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD <small>Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</small>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Interpretación de resultados



Las pruebas se deben leer a los 10 minutos; si pasan más de 10 minutos y la prueba negativa se positiviza entonces no será válido el resultado.

La validez del resultado parte del hecho de que la línea de control debe marcarse para poder interpretar de manera correcta el resultado y que consecuentemente este sea válido.

Cuando se marque la línea en el resultado (T) de la prueba, de modo que será positiva para la presencia del virus correspondiente, según el casete.

Entonces:

- si se marca la línea C y T para FLU A: válido y positivo para influenza A
- si se marca la línea C y T para FLU B: válido y positivo para influenza B
- si se marca la línea C y T para RSV: válido y positivo para Virus Sincitial Respiratorio
- si se marca la línea C y T para ADENO RESP: válido y positivo para Adenovirus

Nota:

- Otras coloraciones de las bandas, así como colores que aparezcan sólo después de 10 minutos, no tienen valor diagnóstico.
- Cantidad grande de muestras pueden conducir a tales manifestaciones.

8.23. CONTROL DE CALIDAD DE INFLUENZA A, INFLUENZA B, RSV Y ADENOVIRUS RESPIRATORIO

La prueba incluye un sistema de autocontrol interno de migración representado por la línea coloreada que aparece en la zona de control C, que confirma que la prueba ha sido realizada de forma correcta y con un volumen de muestra suficiente.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.23.1. Rotavirus adenovirus en materia fecal (prueba rápida)

Muestra requerida: Heces fecales recogidas tan pronto como aparezcan los síntomas respectivamente a los 3-5 días o a los 3-13 días después de la aparición de los síntomas. Si se recogen después, la cantidad de antígeno puede ser insuficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos pueden no estar relacionados con el episodio diarreico.

Principio del método:

Prueba cualitativa basada en la asociación de anticuerpos monoclonales específicos de rotavirus y adenovirus respectivamente. Se basa en un sistema de reacciones inmunológicas realizadas sobre una banda por migración.

- La muestra se introduce a nivel del pocillo de la muestra y migra por capilaridad a lo largo de la membrana.
- Si la muestra contiene rotavirus éstos forman un complejo antígeno-anticuerpo con los anticuerpos específicos de este virus presente en las micro esferas de color rojo.
- Si la muestra contiene adenovirus, éstos forman un complejo antígeno-anticuerpo con los anticuerpos específicos de este virus presente en las micro esferas de color azul.
- Los complejos antígeno-anticuerpo migran a lo largo de la membrana y se fijan a los anticuerpos anti. rotavirus y/o anti adenovirus formando complejos que se visualizan por una línea azul y/o roja en la zona de prueba R ó A de la membrana respectivamente.

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento:

- Las muestras de materia fecal deben ser enviadas lo más pronto posible al Laboratorio Clínico. No deben superar las 2 horas
- La prueba debe ser efectuada dentro de las 72 horas después de recogida la muestra.
- Se deben almacenar congeladas a $-25^{\circ}\text{C} + \text{ó} - 6^{\circ}\text{C}$.
- Recibir muestra de materia fecal con ficha epidemiológica completamente diligenciada por el médico con el consentimiento informado.
- Guardar las muestras para gérmenes comunes (*Shigella-Salmonella*) en medio de transporte que se encuentra en la nevera de microbiología y después guardar en temperatura ambiente.
- Guardar para *Campylobacter* en el medio de cultivo de transporte que se encuentra en el mesón de microbiología, después refrigerarlos.
- Ingresar el resultado al Sistema y transcribirlo en la posterior de la ficha epidemiológica que será entregada a la persona responsable de la sección con las muestras sembradas

Preparación de reactivos:

La prueba está constituida por un dispositivo de plástico que contiene:

- Una membrana de cromatografía.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Un soporte impregnado con un conjugado constituido por la mezcla de un anticuerpo monoclonal *anti-rotavirus* sobre microesferas de poliestireno de color rojo y un anticuerpo monoclonal *anti-adenovirus* sobre microesferas de poliestireno de color azul.
- Llevar los reactivos necesarios a temperatura ambiente antes de su utilización.
- Frascos de buffer de extracción. Para dilución de heces.
- Para uso diagnóstico in vitro exclusivamente.

Técnica: (Leer inserto – adjunto al kit)

- Ajustar reactivos a temperatura ambiente (20-25 °C)
- Pipetear 1 ml de buffer de extracción a un tubo de ensayo.
- Adicionar 100 ul ó 50 mg de muestra de heces
- Homogenizar la muestra en un vibrador vortex o como alternativa mediante la aspiración y expulsión de heces con una de las pipetas desechables suministradas
- Dejar que se sedimente la suspensión de heces durante 3 minutos.
- Sacar el cassette de la bolsa plástica y pipetear 4 gotas ó 200 ul de sobrenadante claro en el orificio circular de entrada del cassette.
- Lectura de resultado después de 5 minutos.

8.24. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y REPORTE

Positivo:

- Adenovirus positivo: Junto a la banda verde de control (C) se ve además una banda azul (T1).
- Rotavirus positivo: Junto a la banda verde de control (C) se ve además una banda rojiza (T2)
- Rotavirus y Adenovirus positivos: junto a la bandeja verde de control (C) se ve además una banda roja y una azul.

NEGATIVO Solo se ve la banda verde

INVALIDO No existe banda verde de control. En este caso se debe repetir el test con un nuevo casete.

Nota:

Otras coloraciones de las bandas, así como colores que aparezcan sólo después de 10 minutos, no tienen valor diagnóstico.

Cantidad grande de muestras pueden conducir a tales manifestaciones.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.25. MONTAJE MANUAL Y AUTOMATIZADO DE PRUEBAS CONFIRMATORIAS DE RESISTENCIA BACTERIANA

8.25.1. Montaje manual y automatizado

Muestra requerida: Cepa de microorganismo de interés.

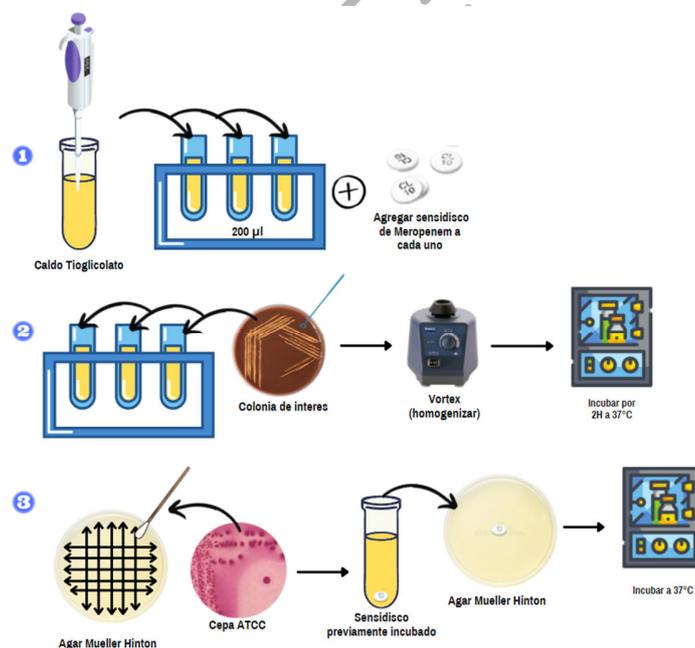
Principio del método: Se realizan las pruebas confirmatorias de resistencia bacteriana para evidenciar si el microorganismo en cuestión posee las enzimas *metalobetalactamasas* y/o *carbapenemasas*.

Preparación de reactivos: Caldo Tioglicolato, Agar Mueller Hinton

Técnica

Test de inactivación:

- Se toman 2000µl de caldo Tioglicolato y se reparten en los tubos a analizar. Posterior a ello se pone un sensidisco de Meropenem a cada tubo.
- Tomar colonias de importancia con un asa calibrada, inocular el tubo y llevar al vortex para homogeneizar.
- Incubar a 36°C por 2 horas.
- Finalizadas las 2 horas de incubación, realizar como primera instancia una siembra masiva de cepa ATCC con un escobillón en agar Mueller Hinton para posteriormente colocar el sensidisco de Meropenem que se encuentra contenido en cada tubo, marcar debidamente cada caja con la identificación correspondiente.



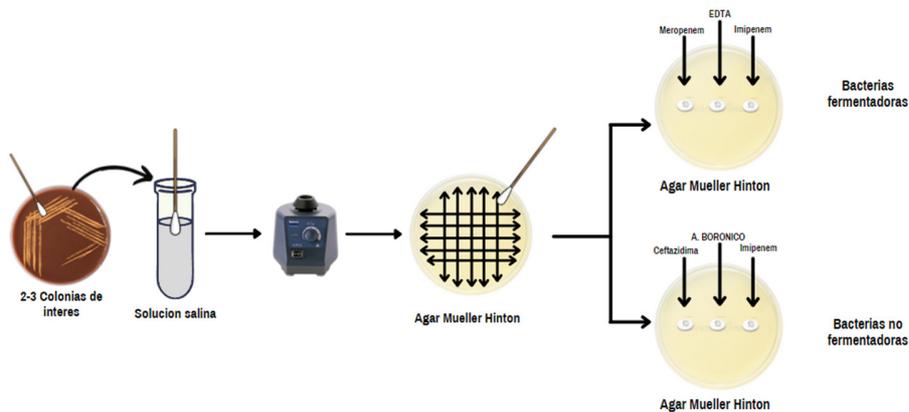
Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10

 <p>ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</p>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

➤ **Escalas macfarland:**

- Tener en cuenta una turbidez estándar de 0.45-0.48, nivelar la suspensión con solución salina (2-3 gotas).
- Escoger 2-3 colonias con un escobillón e inocular.
- Marcar cajas de Agar Mueller Hinton con identificación correspondiente
- Realizar siembra masiva por todo el medio con un escobillón para realizar antibiograma.
- Para bacterias fermentadoras aplicar sensidisco de EDTA, Meropenem e Imipenem y ÁCIDO BORÓNICO, Imipenem y Cefazidima, para bacterias NO fermentadoras aplicar solo EDTA, Meropenem e Imipenem.



Reporte de resultados:

Resistencia a metalobetalactamasas: Positiva si se observa la formación de una figura de huevo entre los dos sensidiscos del extremo y el medio.

Resistencia tipo KPC: Positiva si se observa formación de una figura de huevo entre los sensidiscos del Ácido Borónico y el de Imipenem.

Resistencia tipo cefalosporinas: Positiva si se observa formación de una figura de huevo entre los sensidiscos de Ácido Borónico y el de Cefazidime.

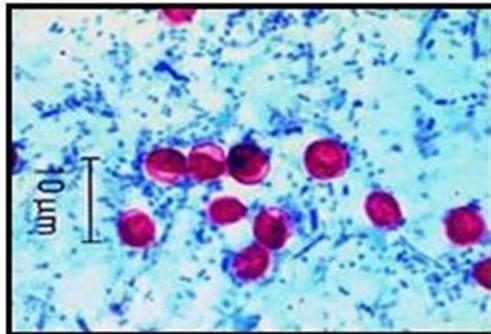
➤ **Montaje automatizado**

Para llevar a cabo el montaje de antibiograma en el equipo BD PHOENIX remitirse al manual físico de entrenamiento del usuario que se encuentra en el laboratorio de microbiología.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.26. COLORACIONES USADAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA USS TUNAL

8.26.1. Coloración de ziehl nielsen modificada *Cryptosporidium spp*



Principio del método:

- En la materia fecal se pueden identificar parásitos como coccidios que produce diarrea intensa y prolongada en el paciente con afección inmunológica.
- El protozoo causante de la criptosporidiosis es *Cryptosporidium*. Se ha identificado la especie *C. parvum* como la responsable de las infecciones humanas y de algunos animales. El diagnóstico se hace por el hallazgo de ooquistes en las materias fecales o el material obtenido del duodeno por la cuerda de Bel. (*Enterotest*).

Muestra requerida: Material fecal.

(La materia fecal generalmente es acuosa, sin moco, ni sangre, la mayoría de las veces sin leucocitos).

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02).

Reactivos:

- Fucsina carbónica fría (Fucsina de Ziehl Neelsen), se debe mantener en nevera.
- Decolorante (Alcohol –ácido).
- Azul de Metileno de Ziehl Neelsen.
- Formol al 10% ó Formalina al 10%: Se debe calentar a 60°C para muestras que contienen huevos de helmintos para detener desarrollo y disminuir su viabilidad.
- Formaldehído (USP) 100 ml
- Solución salina al 0.85% 900 ml

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 35 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Diluir 100 ml de formaldehído en 900 ml de solución salina al 0.85% (puede utilizarse agua destilada en vez de S.S.)
- Fijador: Acetona, alcohol acetona o metanol

Técnica coloración ziehl neelsen modificado:



* Se realiza con la finalidad de identificar o quistes de coccidios intestinales y *Cryptosporidium spp.*

Tiempos:

1. Realizar el método de concentración formol-éter: se coloca 1 gr ó cc de materia fecal en 2 cc de formol, se deja 2 horas en reposo.
2. Centrifugar por media hora.
3. Fijar el extendido alcohol acetona o acetona durante 2- 3 minutos. Dejar secar.
4. Colorear con Fucsina de Ziehl Neelsen sin someter a calor durante 10-12 minutos.
5. Decolorar con alcohol ácido durante 1 minuto.
6. Colorear con Azul de metileno por 4 minutos.
7. Dejar secar a temperatura ambiente.
8. Observar al microscopio con objetivo de 100X.

Nota: En las preparaciones con solución salina. y lugol se pueden observar unas estructuras redondeadas u ovoides de pared definida, como “huevos vacíos”, de tamaños uniformes refringentes algunas veces con estructuras granulares internas, que no son fáciles de identificar ó parecer levaduras y por eso se debe realizar la coloración de *Ziehl Neelsen* modificado.

Reporte de resultado:

- Positivo para *Cryptosporidium*: Ooquistes ácido resistentes de color rojo brillante sobre fondo azul.
- Negativo para *Cryptosporidium*: ausencia de Ooquistes.
- Positivo o negativo para otros parásitos Ácido alcohol resistente.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 36 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.26.2. Coloración de GRAM

Fundamento:

La coloración de Gram, permite realizar una clasificación bacteriana y la diferenciación en los siguientes aspectos:

- Morfología celular.
- Característica de la pared bacteriana.
- Agrupación celular.

Esta coloración se basa en las diferencias físico químicas de la pared celular bacteriana. La pared celular de las bacterias **GRAM POSITIVAS**: Contienen de 50 % a 60% de péptido glicano y de 40 a 50% de ácidos Teicoicos y polisacáridos; al realizar la coloración de Gram y agregar el cristal violeta y luego el Lugol, se forma un complejo cristal violeta-yodo que penetra en la pared de las bacterias Gram positivas y se fijan a ella. Al realizar la decoloración no se afecta este complejo, por lo cual las bacterias Gram positivas permanecen de color violeta azulado.

Las bacterias **GRAM NEGATIVAS**: Contienen en su pared de 5 a 10 % peptidoglucano, de 20 a 30 % de fosfolípidos y 30% de lipopolisacáridos, se forma el complejo cristal violeta - yodo, pero debido a la mayor cantidad de lípidos de la pared al realizar la decoloración con el alcohol cetona, éste arrastra el cristal violeta - yodo y por lo tanto las bacterias Gram negativas toman el colorante secundario, la fucsina de Gram y se observan rojas-rosadas.

Existen factores que influyen en la obtención de una coloración de Gram óptima, entre estas están:

- El uso de láminas sucias o rayadas
- Extendidos gruesos
- Sobre calentamiento al fijar con calor
- Excesivo lavado durante la coloración
- Se debe realizar la estandarización de la coloración con láminas de control para microorganismos Gram positivos y Gram negativos
- Conservación y filtración adecuada de colorantes

La coloración tiene una normalización internacional y sus componentes, así como sus tiempos de reacción y su secuencia no puede variar.

Muestra requerida: La tinción de Gram se puede utilizar en casi todas las muestras biológicas, orina, secreciones, líquidos etc

Método de toma de muestra: Es específico para cada una de las muestras a analizar, Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01 V. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Preparación de colorantes: Vienen listos para el uso.

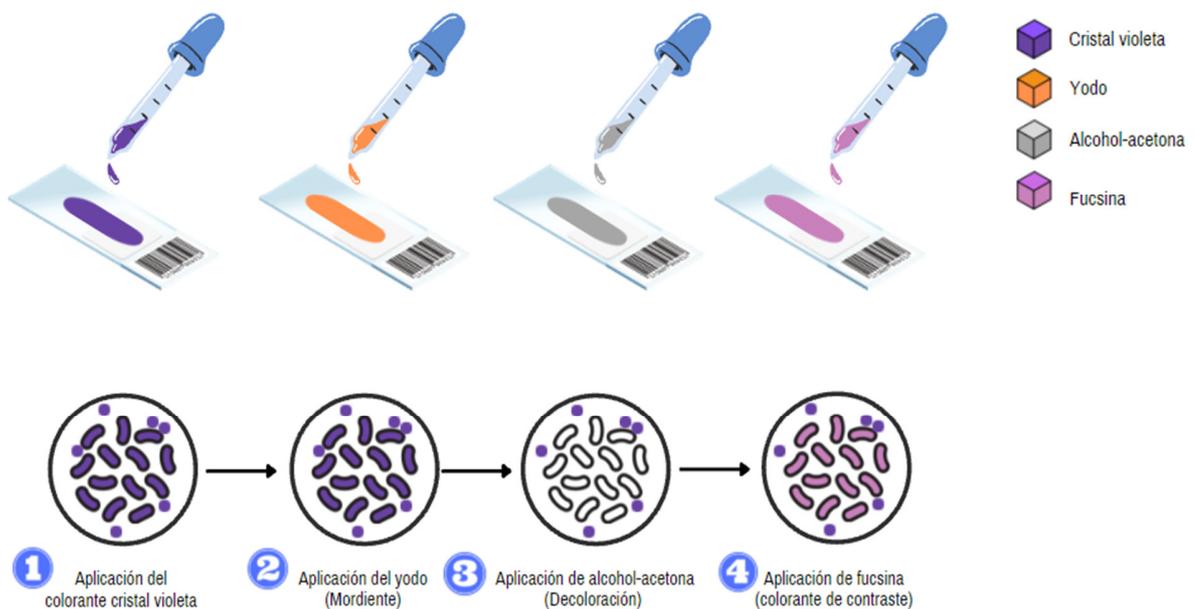
1. Colorante básico (Violeta de Gram).
2. Mordiente (Lugol de Gram)

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

3. Decoloración (Alcohol-acetona.)
4. Colorante de contraste (Fucsina de Gram)

Técnica

El material de estudio puede proceder de un producto cualquiera: Pus, exudado, secreciones, hemocultivos o de un cultivo bacteriano puro. Usualmente la muestra se toma con el asa bacteriológica estéril, con solución salina en caso de que la muestra sea muy densa; luego se produce a realizar la colocación de la siguiente forma:



Tiempos: Los tiempos estarán estipulados por cada laboratorio dependiendo las condiciones ambientales. Universalmente estos son los tiempos establecidos.

1. Cristal violeta, se deja actuar por 50 segundos.
2. Lugol, se deja actuar por 60 segundos.
3. Alcohol-acetona, 30 segundos.
4. Safranina o Fucsina de Gram y se deja actuar por 60 segundos.
5. Se lava la preparación con agua corriente, secar a temperatura ambiente.
6. Observar al microscopio con objetivo de 100X.

Control de la coloración:

Se toman cepas ATCC las cuales se colorean simultáneamente con las láminas a estudiar, realizar la lectura y registrar resultados en el formato (COM-LAB-CLI-FT-32) Coloración de

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Gram, este control se requiere para validar la coloración y se ejecuta en cada turno o cuando se requiera realizar confirmación de algún caso.

Reporte de resultado: Se interpreta como Gram positivo o Gram negativo y su morfología (cocos, bacilos y cocobacilos).

8.27. CAPÍTULO II: MUESTRAS PROCESADAS EN MICROBIOLOGÍA ESPECIALIZADA

8.27.1. Lepra

Baciloscopia de hansen

Cuando se realiza:

Caso sospechoso: Lesión cutánea de larga duración que no sea congénita y que no responda a tratamiento, se puede confundir con una dermatitis. Estas lesiones van acompañadas con daño de nervio periférico.

Si la baciloscopia es negativa, es mandatorio realizar biopsia

Caso confirmado: Paciente Clínicamente diagnosticado. La biopsia también ayuda a la confirmación del diagnóstico.

Muestra requerida: Linfa (de lóbulo de la oreja, codo y rodilla), raspado de mucosa nasal y raspado de lesiones cuando el paciente las presenta, específicamente bordes opuestos de la lesión. Evitar contaminación con sangre.

Multibacilar	Paucibacilar		
(Índice bacilar > 0)	(Índice bacilar= 0)	Una baciloscopia negativa no descarta el diagnóstico de lepra; en este caso debe realizarse una biopsia de piel.	Deberán tomarse cinco muestras tanto para la baciloscopia de clasificación como para la baciloscopia al término del tratamiento.

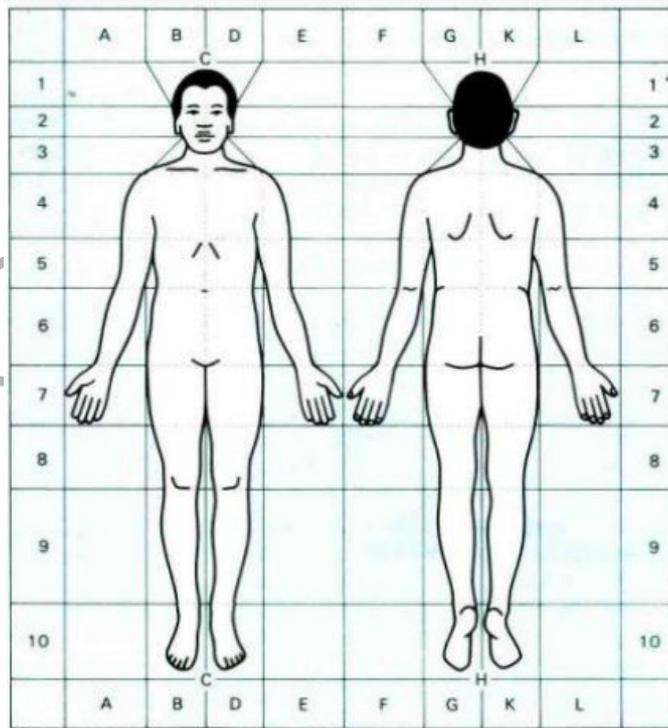
Información relevante del examen:

- Confirmación del diagnóstico y clasificación.
- Seguimiento del tratamiento.
- Se buscan lesiones hipo anestésicas a nivel de manos, pies, párpados. "Las lesiones no pican, no rascan, no duelen"

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

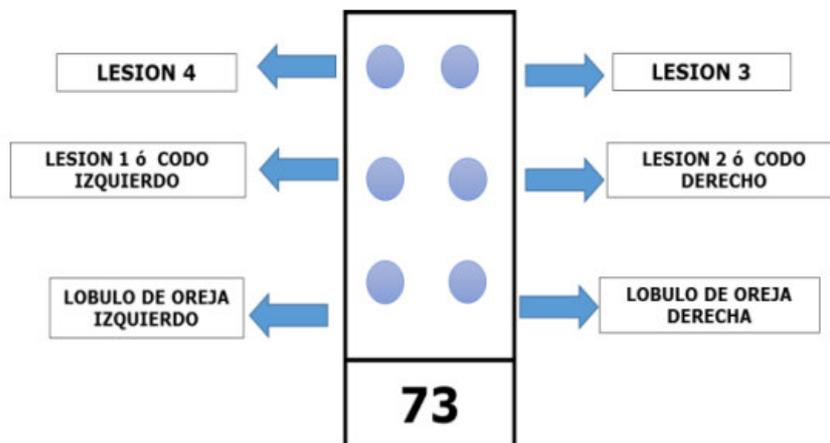
La muestra requerida para la clasificación por laboratorio de un caso de Lepra, es líquido intersticial proveniente de los sitios que el Bacilo de Hansen habita como piel mucosa donde las bajas temperaturas y tolerancia inmunológica favorecen el

desarrollo de la enfermedad; estos deben ser mínimo 4 y máximo 6, dentro de los cuales se encuentran: Lóbulos de las orejas, Codos y/o lesiones, para las lesiones se debe tener en cuenta la información proporcionada por el clínico en el “Esquema corporal” que se muestra a continuación:



Es fundamental que los laboratorios en el momento de la recolección de la muestra, coloquen los frotis de líquido intersticial de forma estandarizada, con el fin de favorecer las actividades de referencia y contra referencia que se realizan con los Laboratorios de Salud Pública

Las muestras se recolectan sobre lámina porta objeto, de la siguiente manera:



 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Preparación de reactivos: Vienen listos para el uso

Colorantes:

- Fucsina de *Ziehl Neelsen*
- alcohol ácido
- Azul de metileno.

Técnica:



Tiempos

- Coloración 5 minutos.
- Decoloración 3 minutos
- Coloración de contraste 1 minuto

Reporte de resultados de lepra:

Escala Logarítmica de Ridley

(0)	Ausencia de bacilos en 100 campos examinados.
(1+)	Presencia de 1 a 10 bacilos, en 100 campos examinados
(2+)	Presencia de 1 a 10 bacilos, en cada 10 campos examinados.
(3+)	Presencia de 1 a 10 bacilos, en promedio, en cada campo examinado.
(4+)	Presencia de 10 a 100 bacilos, en promedio, en cada campo examinado.
(5+)	Presencia de 100 a 1.000 bacilos, en promedio, en cada campo examinado
(6+)	Presencia de más de 1.000 bacilos, en promedio, en cada campo examinado

Nota: Para los índices de 0 a 3+ se deben examinar 100 campos microscópicos; de 4+ a 6+, la lectura podrá realizarse en 25 campos.

Tomado de: *Manual de diagnóstico laboratorial, edición I. Año 2017.*

<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/11/963833/7-manual-diagnostico-laboratorial-version-final.pdf>

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 41 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- El índice bacilar es un indicador objetivo para acompañar el seguimiento de los pacientes multibacilares y evaluar los resultados del tratamiento.
- El rango del índice bacilar, cuando es positivo, oscila entre 0,2 (1/5) hasta 3,0 (15/5), si se utilizan cinco muestras, pero puede tener otros rangos, dependiendo del número de muestras utilizadas.

Procedimiento para el cálculo del índice bacilar (IB): para cada muestra se registra el número de cruces, de acuerdo con la escala anterior.

Índice bacilar (IB): es el promedio aritmético de las cruces encontradas en cada una de las muestras leídas. Totalizar el número de cruces del punto anterior y dividir por el número de muestras leídas.

Ejemplo:

Moco (++)

Linfa del lóbulo derecho (++)

Linfa de lóbulo izquierdo (++)

Linfa de la lesión 1 (+)

Linfa de la lesión 2 (+)

IB = 2+2+2+1+1 =8/5= 1,6

ÍNDICE BACILAR
Promedio, sumar las cruces obtenidas en las muestras tomadas al paciente
El mayor rango será $(+++)+(+++)+(+++)+(+++)+(+++)+(+++)=18/6=3.0$
El menor rango será $(0)+(0)+(0)+(0)+(0)+(0)=1/6=0.2$
IB irá de 0.2 - 3.0

La clasificación bacteriológica será entonces:

- Multibacilar (MB): IB mayor de cero.
- Paucibacilar (PB): IB igual a cero.

Informe de resultados: El resultado debe informarse positivo o negativo, indicando además número de cruces por muestra y el Índice bacilar.

Valores de referencia:

Se informa y el número de cruces de acuerdo a la cantidad de bacilos por campo.

- Negativo
- Positivo

Se pueden presentar:

- **Falsos positivos:** por transferencia de bacilos, colorante no filtrado, artefactos

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- **Falsos negativos:** Toma inadecuada de muestra, extendidos delgados, coloración incorrecta, observación microscópica inadecuada.

Nota: Para mayor información, diríjase al protocolo de la secretaria Distrital de Salud para el diagnóstico de LEPROA, asignado en el siguiente enlace: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Protocolos%20de%20Vigilancia%20en%20Salud%20Publica/Lepra.pdf>

8.27.2. Tuberculosis

Baciloscopia

Muestra requerida:

Espuito proveniente de los bronquios obtenidos por medio de la expectoración. (El esputo no es un material proveniente de la región posterior de la nariz ni tampoco es saliva). También se puede realizar en líquidos corporales (LCR, articular, pericárdico, pleural) y otros materiales biológicos (aspirado de lavado gástrico o biopsias).

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02) o aplicar la “Guía de Transporte de Sustancias Infecciosas de la OMS 2017 - 2018” y el “Manual de bioseguridad para laboratorios de tuberculosis de OMS/OPS”, disponibles en

- <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254788/WHO-WHE-CPI-2017.8-eng.pdf?sequence=1>
- https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92661/9789243504636_spa.pdf;jsessionid=3BE03F64D61C152329573ACA10C8710B?sequence=1

Principio del método:

La baciloscopia se basa en la resistencia que tienen las micobacterias al alcohol-ácido, evidenciado en la coloración de ZN ya que tienen la capacidad de retener en su pared la fucsina fenicada frente a la acción de decolorantes como la mezcla de ácido y alcohol. Debido a su alto contenido en lípidos, particularmente a los ácidos micólicos, que poseen su pared celular. Gracias al contraste que se logra con el azul de metileno los bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) se logran visualizar de color rojo fucsia o fluorescente sobre una coloración de fondo que facilita su visualización.

La baciloscopia permite:

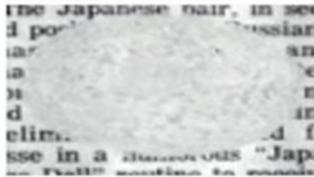
- Confirmación del diagnóstico y clasificación.
- Seguimiento del tratamiento.

Técnica:

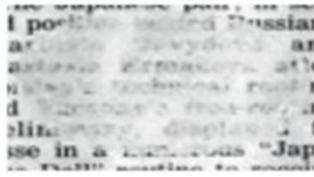
1. Asignar un número de identificación a cada muestra.

 <p>ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E</p>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

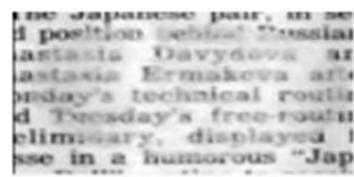
- Destapar con cuidado y con un bajalenguas de madera extender la muestra desde la porción más purulenta o densa del esputo (partícula útil), preparar un extendido en forma de óvalo de 2 cm de largo x 1 cm de ancho. Esto debe realizarse con movimientos suaves para evitar la producción de aerosoles.
- Verificar que el extendido tenga un grosor homogéneo y adecuado para la posterior visualización de BAAR (Evitar que el extendido se encuentre muy fino o muy grueso).



*Demasiado
Grueso*



Bueno



*Demasiado
Fino*

Fuente: Guía para la vigilancia por laboratorio de tuberculosis, 2020.

- Dejar secar el extendido.
- Los extendidos deben ser coloreados de inmediato, debido a que la tinción con fucsina fenicada es la que provoca la muerte del bacilo.

Coloración de ZIEHL NEELSEN

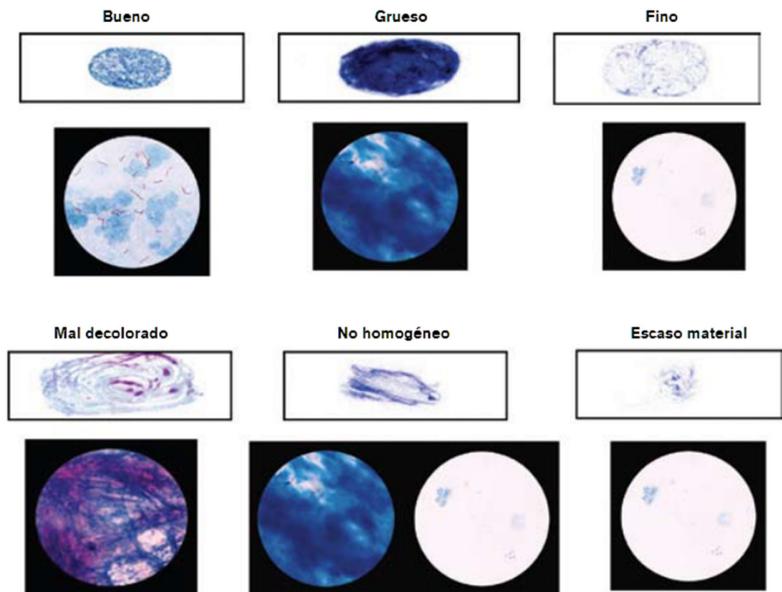
La baciloscopia es la búsqueda microscópica mediante la coloración de Ziehl Neelsen, de bacilos ácido alcohol resistentes (B.A.A.R) a partir de cualquier espécimen clínico.

Técnica de coloración ZIEHL NEELSEN



Tiempos

- Coloración 5 minutos.
- Decoloración 3 minutos
- Coloración de contraste 1 minuto



Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guías técnicas, parte I baciloscopias 2008.

Lectura de lamina

1. Enfocar el extendido 100x.
2. Seguir un recorrido en líneas rectas o paralelas sistemáticamente para recorrer el extendido, evitando repetir la lectura de los campos, por ejemplo, de izquierda a derecha.
3. El número total de campos a examinar depende de si se encuentran bacilos y en qué cantidad, como se observa a continuación:

PROMEDIO DE BAAR ENCONTRADOS	NÚMERO MÍNIMO DE CAMPOS ÚTILES A EXAMINAR
Ninguno	100
Menos de 1 por campo	100
1 a 10 por campo	50
Más de 10 por campo	20
1 a 4 en todo el extendido	200

4. Para calcular el promedio de BAAR encontrados por campo, se sugiere utilizar una cuadrícula de 10 x 10 en la cual se escriba el número de bacilos observados por campo, posterior a esto se debe sumar el total de BAAR y dividirlo por el número de campos observados, teniendo en cuenta la Tabla.
5. Ubicar “campos microscópicos útiles”, aquellos donde se observan células bronquiales (leucocitos, células ciliadas) o fibras mucosas. Los campos sin estos elementos no

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

deben ser considerados para contar el total de campos observados, a menos que contengan BAAR.

Informe de resultados

RESULTADO DEL EXAMEN MICROSCÓPICO	INFORME
No se encuentran BAAR en 100 campos observados	No se observan bacilos ácido alcohol resistentes
Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos observados	N.º exacto de bacilos en 100 campos
Se observan entre 10 a 99 BAAR en 100 campos observados	Positivo (+)
Se observan 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados	Positivo (++)
Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados	Positivo (+++)

Escala adoptada internacionalmente para el informe de resultados extendidos examinados por la técnica de Ziehl Neelsen.

Procedimientos a seguir frente al hallazgo menos de 5 BAAR en 100 campos observados:

Debido a la posibilidad de que se trate de artefactos de coloración, se recomienda:

- Ampliar la lectura a 200 campos. Si con esa lectura no se encuentran más bacilos, hacer otro extendido de la misma muestra, eligiendo las partículas purulentas.
- Si la lectura del segundo extendido no modifica el resultado del anterior la muestra se debe informar con el número exacto de bacilos observados y solicitar una nueva muestra; en estos casos se debe realizar una prueba de PCR y cultivo en medio líquido.

8.28. CULTIVO PARA MICOBACTERIAS ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTE-TBC

El cultivo es el método de diagnóstico bacteriológico de mayor sensibilidad, permite seguir la evolución de los casos y confirmar su curación.

- MGIT

Muestra requerida:

Espuito, aspirado de lavado gástrico, orina tres muestras de la primera micción matutina, (no se hace coloración ZN. directo), líquidos corporales (L.C.R, pleural etc.), lavado o cepillado bronquial y biopsias.

- **Aspirado gástrico:** Luego de realizar la descontaminación y centrifugación para obtener el sedimento, se añade al medio MGIT 500 µL.
- **Fluidos corporales (LCR, líquido sinovial, líquido pleural, etc.):** muestras tomadas asépticamente (no se realiza descontaminación), luego de centrifugar se utiliza el sedimento para inocular el tubo MGIT.
- **Tejidos:** Triturar asépticamente en solución salina estéril, inocular el tubo MGIT directamente.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 46 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- **Materia fecal:** Luego de realizar la descontaminación y centrifugación para obtener el sedimento, se añade al medio MGIT 500 µL.
- **Orina:** Luego de realizar la descontaminación y centrifugación para obtener el sedimento, se añade al medio MGIT 500 µL.
- **Materia fecal:** Suspensa 1 g de heces en 5 ml de caldo Middlebrook. Agite la suspensión en un agitador vortex durante 5 seg. Continuar con el procedimiento del NALC-NaOH.

Método de toma de muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Principio del método:

Según la guía para la vigilancia por laboratorio de tuberculosis, 2020. El cultivo para micobacterias es un método que cuenta con una alta sensibilidad, considerado el gold estándar para la detección. Logra evidenciar entre 10 a 100 BAAR en una muestra, permitiendo evidenciar la evolución de casos y confirmar su curación, considerado el mejor método diagnóstico para tuberculosis extrapulmonar.

- Reducción de tiempos en la recuperación de micobacterias.
- Mayor sensibilidad en medios líquidos y sólidos.
 - ✓ Cultivo líquido: Bactec TM 320/960. (Lectura en UC)
 - ✓ Incubación por 45 días.
 - ✓ Técnicas de identificación rápida: inmunocromatográfica o PCR.

Preparación de reactivos:

- Tener la muestra que se desea sembrar
- Tubos y recipientes estériles
- Escobillones estériles
- Bicarbonato de sodio al 8%
- Centrifuga (4°C a 3.500 gravedades)

Almacenamiento de reactivos:

Los tubos MGIT almacenarlos entre 2 – 25 °C. NO CONGELAR.

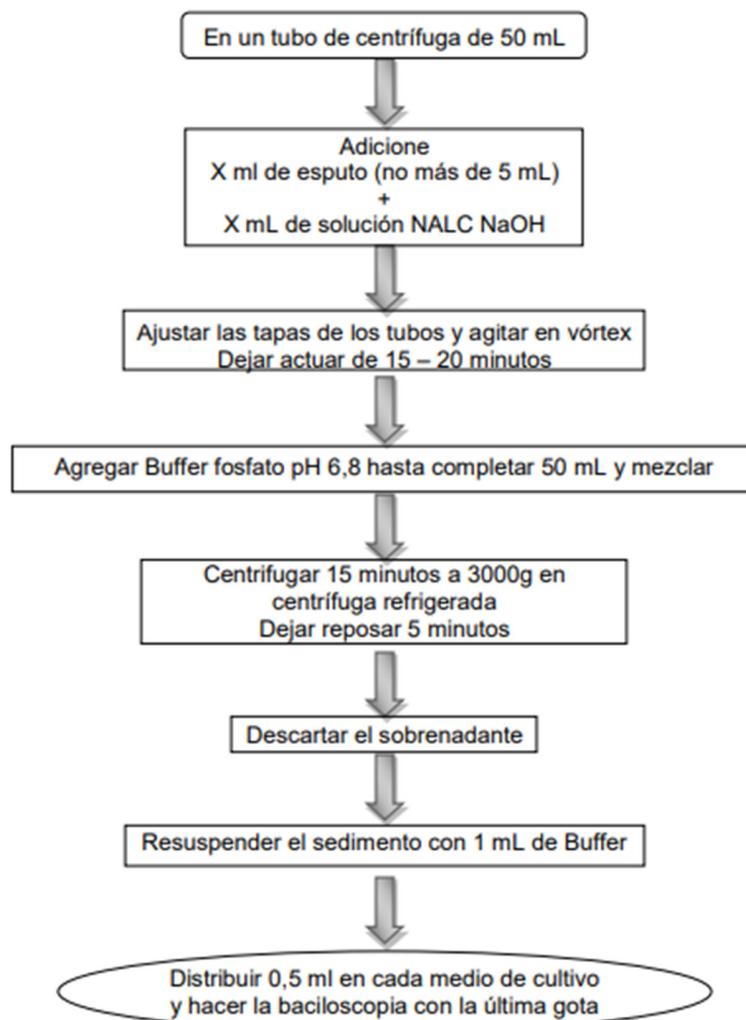
BBL MGIT OADC, a su recepción guardarlo entre 2 – 8 °C. Evitar la congelación o el sobrecalentamiento. No lo abra antes de usarlo. Reducir al mínimo la exposición a la luz.

BBL MGIT PANTA, almacenar los frascos liofilizados entre 2 – 8 °C. Una vez que se reconstituya, la mezcla PANTA puede ser utilizada dentro de 5 días, siempre que se almacene entre 2 – 8 °C ó 6 meses si se almacena a – 20 °C o menos. Una vez que se descongele, la mezcla PANTA debe ser utilizada inmediatamente y desechar la parte no utilizada.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Técnica:

- Asignar un número de identificación a cada muestra.
- Colocar las muestras que serán procesadas en la CBS (Cabina de Seguridad Biológica), en línea horizontal y en el orden en que han sido identificadas.
- Realizar el procesamiento de las muestras según lo descrito en los manuales del equipo automatizado.
- Las muestras que por su origen o naturaleza se consideran contaminadas se les debe realizar la descontaminación, como se muestra a continuación:



Fuente: Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guías técnicas, parte II cultivo 2008.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Espuito, Secreción orotraqueal, orina, materia fecal, lavado bronco alveolar, biopsia de piel.	N-Acetil cisteína + MX +vortex 20 min. Llevar a 50 ml con buffer 6.8%
Lavado gástrico	1. Bicarbonato de Sodio al 8% 2. N-Acetil cisteína + MX +vortex 20 min. Llevar a 50 ml con buffer 6.8%

1. Agregar al tubo de medio 0,8 ml de suplemento OADC+PANTA (esta mezcla es estable hasta por 5 días en refrigeración).
2. Sembrar 0,5 mL de muestra en medio de cultivo líquido de tubo MGIT 7 mL, ajustar muy bien las tapas y mezclar 2 a 3 veces el tubo de cultivo líquido e ingresar al equipo sistema para cultivo de micobacterias. Debido a que esta técnica se complementa con el cultivo en medio LJ, siembre 0,5 mL de la muestra en este medio.
3. Introducir los tubos en la incubadora para TBC a 37 C±1°C en posición horizontal con un mínimo de inclinación, con las tapas sin ajustar por una semana, posteriormente ajustar bien las tapas. Realizar ZN e identificación rápida en caso de ser positivos.
4. El medio LJ permitirá correlacionar los resultados obtenidos en el MGIT, como contaminación o presencia de otras micobacterias
5. El equipo emite una señal cuando en el tubo de cultivo hay crecimiento de algún microorganismo, aquí se debe retirar el tubo del equipo y realizar pruebas complementarias como ZN e identificación rápida de especie, debido a que una señal positiva puede ser por crecimiento de una micobacteria no tuberculosa, del complejo *M. tuberculosis* o de cualquier otro tipo de microorganismo.

Nota: En caso de que el equipo a los 42 días de incubación termine la prueba, el cultivo se reportará como negativo.

Reporte

INFORME MEDIANTE PRUEBAS COMPLEMENTARIAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE		
Cultivo	Positivo	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	Negativo	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Negativo		No se observan colonias
(+)		Menos de 20 colonias
(++)		De 20 a 100 colonias
(+++)		Más de 100 colonias separadas
(++++)		Colonias confluentes
Contaminado		

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 49 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.29. CAPÍTULO III: MICROBIOLOGÍA MOLECULAR

8.29.1. Sistema BD MAX-MDR-TB

La prueba BD MAX MDR-TB (tuberculosis multirresistente), realizada en el sistema BD MAX, es un test diagnóstico automatizado y cualitativo in vitro para la detección directa de ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) en las respectivas muestras como lo son, esputo, aspirado de lavado gástrico, líquidos corporales (L.C.R, pleural etc.), lavado o cepillado bronquial y biopsias; previamente diluidas con el reactivo BD MAX STR.

La prueba BD MAX MDR-TB detectan mutaciones:

- Gen rpoB asociado a la resistencia a la rifampicina.
- Gen katG y la región promotora de inhA, ambas asociadas a la resistencia a isoniazida.

El test utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la amplificación de dianas de ADN específicas y sondas fluorogénicas de hibridación con diana específica para detectar ADN de MTBC, así como ADN asociado a mutaciones en los genes rpoB y katG y la región promotora de inhA asociada a tuberculosis multirresistente.

Muestra requerida: Esputo y concentrados bronquiales

Método toma de la muestra: Todas las muestras deben recogerse y transportarse conforme a las recomendaciones de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC), del Clinical Microbiology Procedures Handbook o Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico).

Conservación de la muestra: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02).

Principio del procedimiento:

El sistema BD MAX automatiza la preparación de la muestra, incluida la lisis de los organismos diana, la extracción y concentración del ADN, la rehidratación de los reactivos, la amplificación de las secuencias de ácidos nucleicos diana y la detección mediante PCR en tiempo real. El sistema BD MAX interpreta la señal automáticamente.

- El sistema utiliza una combinación de reactivos y calor diseñada para llevar a cabo la lisis celular y la extracción del ADN.
- Los ácidos nucleicos liberados se capturan en microesferas de afinidad magnética.
- Las microesferas con los ácidos nucleicos fijados, se lavan y los ácidos nucleicos se eluyen por calor en el tampón de elución.
- El ADN eluido se neutraliza y se transfiere a los tubos de la Master Mix para rehidratar los reactivos para la PCR.
- Una vez finalizada la rehidratación, el sistema dispensa un volumen fijo de una solución preparada para PCR en la tarjeta de PCR BD MAX.
- El sistema sella las *microválvulas* de la tarjeta de PCR BD MAX antes de iniciar la PCR para contener la mezcla de amplificación y así evitar la evaporación y la contaminación por *amplicones*.
- El ADN amplificado se detecta mediante sondas de hidrólisis (TaqMan) marcadas con un colorante fluorescente de indicación (fluoróforo) en un extremo y con una porción extintora en el otro extremo.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Se utilizan sondas marcadas con distintos *fluoróforos* para detectar el ADN del complejo *M. tuberculosis*, resistencia a rifampicina, resistencia a isoniazida.
- La detección de resistencia a rifampicina utiliza química de desnaturalización para detectar mutaciones en la región de 81 pares de bases de RRDR del gen *rpoB* y la detección de resistencia a isoniazida se determina mediante la detección de mutaciones en la región promotora de *inhA* y el gen *katG*.

Preparación de reactivos

- Master Mix (mezcla maestra): Mezcla maestra deshidratada para PCR que contiene polimerasa, nucleótidos, sondas moleculares y cebadores.
- Tiras de reactivos: Contienen todos los reactivos líquidos y las puntas de pipeta desechables que se necesitan para el procesamiento automatizado de las muestras y la extracción de ADN en el sistema BD MAX.
- Tubos de extracción: Reactivo de extracción deshidratado que contiene microesferas de afinidad magnética para el ADN, reactivos de proteasa y control de procesamiento de muestras.
- Sample Tube (tubo de muestras).
- Pipetas de transferencia 25
- Tapones con membrana 25
- STR (reactivo para tratamiento de muestras).
- Cartridges tarjetas de PCR.
- Controles externos
- Medios de cultivo (caldo MGIT)
- Middlebrook OADC (Enriquecimiento para el aislamiento y cultivo de micobacterias).
- Placas de agar 7H10/7H11
- Solución salina tamponada con fosfato
- Esparcidores de placa
- Vórtex
- BD BBL MycoPrep

Almacenamiento de reactivos: Almacene el kit BD MAX MDR-TB a una temperatura de 2-28 °C. Los reactivos BD MAX MDR-TB se suministran en bolsas precintadas. Para proteger el producto de la humedad, cerrar inmediatamente después de abrirlas. Utilice los tubos de reactivo a 2-28 °C durante los 14 días después de abrir y cerrar la bolsa por primera vez.

Procedimiento: (preparación de la muestra)

Etiquete un tubo de muestras BD MAX MDR-TB (tapón transparente) con código de barras con el identificador de la muestra correcto.

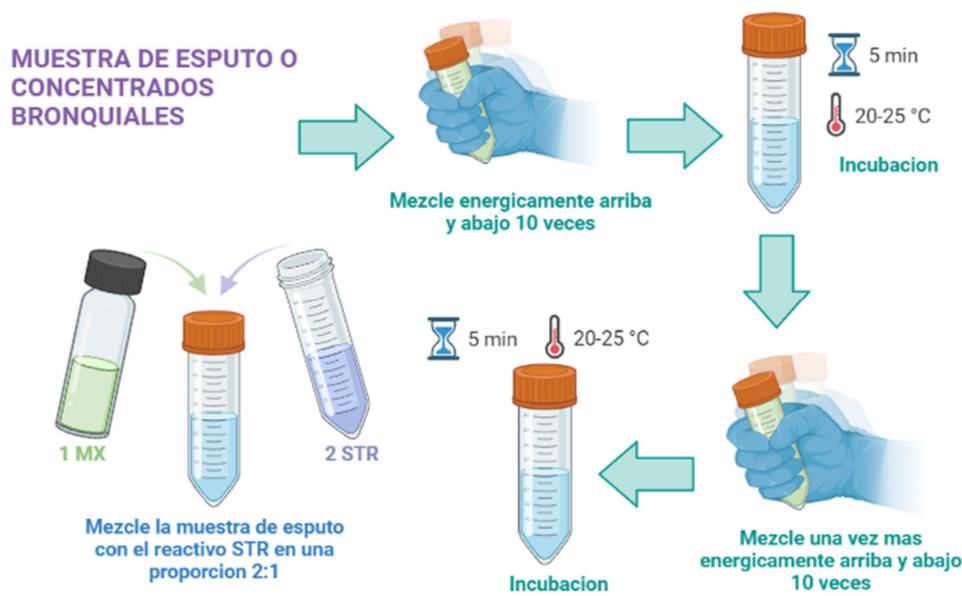
Incuba la muestra tratada con BD MAX STR a temperatura ambiente durante 25 minutos

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Quite el tapón del BD MAX MDR-TB Sample Tube y conserve el tapón duro si va a almacenar la muestra.

Con la pipeta de transferencia suministrada, transfiera 2,5 mL de la muestra tratada con STR (dilución) a un BD MAX MDR-TB Sample Tube etiquetado. Vuelva a comprobar que el identificador de la muestra que figura en el tubo de muestras BD MAX MDR-TB coincide con la etiqueta del recipiente de recogida.

Continúe en la sección "Funcionamiento del sistema BD MAX" para realizar el análisis BD MAX MDR-TB en el sistema BD MAX



Procedimiento en el equipo:

1. Encender el sistema BD MAX e introducir usuario y contraseña para iniciar sesión.
2. Extraer el número necesario de tiras de reactivos individuales del kit BD MAX MDR-TB. Asegurarse de que todos los líquidos queden en el fondo de los tubos.
3. Tubos de extracción y mezcla maestra del kit BD MAX MDR-TB.
4. Eliminar el exceso de aire de las bolsas y sellar rápidamente.
5. Por cada muestra que se vaya a analizar, coloque una tira de reactivos individuales en la gradilla, empezando por la posición 1.
6. Monte un tubo de extracción (envoltorio metalizado blanco) en la posición 1 de cada tira de reactivos individual.
7. Monte un tubo de BD MAX MDR-TB Master Mix (envoltorio metalizado verde) en la posición 2 de cada tira de reactivos individual.
8. Monte un tubo de BD MAX MDR-TB Master Mix (envoltorio metalizado azul) en la posición 4 de cada tira de reactivos individual.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

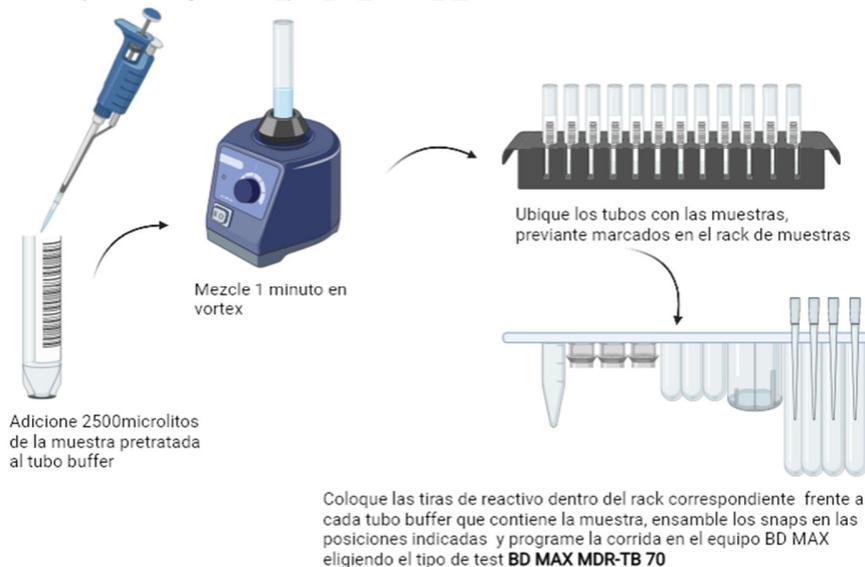
- Introducir el número de lote del kit BD MAX MDR-TB (para fines de trazabilidad de lotes). Escaneando el código de barras con el lector o de forma manual (aparece en la caja exterior).

Nota: repita el paso anterior cada vez que utilice un kit nuevo.

- En la lista de trabajo, introduzca el ID del tubo de muestras de BD MAX MDR-TB, el ID de paciente y el número de acceso (si procede) de forma manual o escaneando el código de barras con el lector.
- En el menú desplegable, seleccione el número de lote del kit correspondiente (situado en la caja exterior del kit).
- Coloque los tubos de tampón de muestras en las gradillas del sistema BD MAX correspondientes a las tiras de reactivos individuales que se han montado.

Nota: Colocar los tubos de muestras en la gradilla de muestras con el código de barras hacia fuera.

- Coloque el número necesario de BD MAX PCR en el sistema BD MAX
- Cargue las gradillas.
- Cierre la tapa del sistema BD MAX y haga clic en para iniciar el procesamiento.
- Al finalizar la serie, compruebe los resultados inmediatamente o conserve los tubos de muestras a 2-28 °C durante un máximo de 72 horas después del tratamiento con STR hasta que se hayan comprobado los resultados.



Interpretación de los resultados: El software del sistema BD MAX interpreta automáticamente los resultados de las pruebas. Se indican los resultados de cada uno de los analitos y del control de procesamiento de muestras.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Interpretación:

RESULTADO DE LA PRUEBA NOTIFICADO		INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO
MTB detectada		<i>Detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis</i>
MTB POS baja		<i>Detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis pero con resultados de resistencia no mensurables; las sondas del promotor ≥ 2 RRDR^a, katG o inhA no dieron una señal, indicativo de carga bacteriana baja</i>
MTB NO detectada		<i>No detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis y detectado control de procesamiento de muestras</i>
Resistencia a RIF detectada		<i>Se han detectado una o más mutaciones en el RRDR^a</i>
Resistencia a RIF NO detectada		<i>No se han detectado mutaciones en el RRDR^a</i>
Resistencia a RIF NO REGISTRABLE		<i>Se ha detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis pero con resultados de resistencia a RIF no mensurables; una sola sonda de rpoB no dio una señal y las sondas rpoB restantes se presentaron como señales de tipo silvestre</i>
INH Resistance Detected (Resistencia a INH detectada)^c	Mut. katG NO detectada	<i>Se ha detectado ADN resistente a INH; no se han detectado mutaciones en la diana de la prueba de katG</i>
	Mut. katG detectada	<i>Se ha detectado ADN resistente a INH; se han detectado una o más mutaciones en la diana de la prueba de katG</i>
	Mut. inhApr^b NO detectada	<i>Se ha detectado ADN resistente a INH; no se han detectado mutaciones en la diana de la prueba de la región promotora de inhA</i>
	Mut. inhApr^b detectada	<i>Se ha detectado ADN resistente a INH; se han detectado mutaciones en la diana de la prueba de la región promotora de inhA</i>
Resistencia a INH NO detectada		<i>No se han detectado mutaciones en las dianas de la prueba de la región promotora de katG e inhA</i>
Resistencia a INH NO REGISTRABLE		<i>Se ha detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis pero con resultados de resistencia a INH no mensurables; la sonda de la región promotora de katG o inhA no dio una señal y la otra señal se presentó como de tipo silvestre</i>
MTB no resuelto (MTB UNR)		<i>No se ha detectado ADN del complejo Mycobacterium tuberculosis ni control de procesamiento de muestras (indica error de los reactivos o muestra inhibidora)</i>
Indeterminado (IND)		<i>Indeterminado debido a un fallo del sistema BD MAX (con código de advertencia o error^d)</i>
Incompleto (INC)		<i>Serie incompleta (con código de advertencia o error^d)</i>

Fuente: Manual de procedimiento BD MAX Multi Drug Resistant Tuberculosis ref 443878.2020-11

Nota: Los resultados IND (Indeterminado) o INC (Incompleto) se deben a un fallo del sistema BD MAX.

Las pruebas de los controles externos deben generar los resultados previstos. Si es necesario repetir el análisis de las muestras debido a un resultado incorrecto del control externo, se deberán repetir a partir de los tubos de muestras correspondientes junto con controles externos recién preparados.

Para mayor información remitirse al manual de procedimiento BD MAX Multi Drug Resistant Tuberculosis, dispuesto en el siguiente link: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=35852>

8.30. PROTOCOLÓ DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN BD MAX

La limpieza y desinfección se realiza antes de cada uno de los montajes en donde se implementa la técnica usada para las pruebas de TBC y COVID – 19, esta tiene como fin evitar la contaminación cruzada que puede interferir en la calidad del resultado obtenido, mediante los siguientes pasos.

1. Utilizar en el proceso guantes desechables de nitrilo libres de polvo.
2. Limpie los siguientes elementos y áreas inicialmente con hipoclorito sódico en agua al 1% (v/v) y posteriormente con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% o paños

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 54 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

desinfectantes comercialmente disponibles que contengan hipoclorito sódico al 1%. Para la limpieza, utilice un paño sin pelusas humedecido.

- Gradillas de muestras, deben limpiarse entre una serie y la siguiente.
- Superficie de las mesas del laboratorio.
- Elementos auxiliares como pipeteadores, vórtex, gradillas de tubos, etc.
- Superficies de trabajo interiores y exteriores del equipo BD MAX (se recomienda limpiar las superficies exteriores de BD MAX antes que las interiores), excepto la superficie de vidrio del cajón de tarjetas (se recomienda colocar las tarjetas para PCR sin utilizar en los cajones de tarjetas durante la limpieza; de este modo, se protegen las superficies de vidrio de cualquier salpicadura accidental de limpiadores abrasivos o corrosivos).

3. Con un movimiento unidireccional, limpie bien todas las partes del sistema que hayan entrado en contacto con el hipoclorito sódico (inhibidor conocido de la PCR) con un paño sin pelusas humedecido con agua desionizada y, a continuación, con alcohol al 70%.

4. Para cada solución (hipoclorito/ alcohol) use un paño independiente.

5. Registrar el proceso de limpieza y desinfección del instrumento BD MAX en el formato **MANTENIMIENTO DIARIO BD MAX**

Semanalmente se debe realizar el procedimiento de limpieza y desinfección del equipo complementado, para lograr una descontaminación total de derrames, salpicaduras o contaminación evidente. Se realiza el procedimiento descrito a continuación:

1. Apague el instrumento BD MAX con el interruptor de encendido/apagado.

2. Use el equipo de protección personal adecuado incluyendo guantes desechables de nitrilo libres de polvo y siga las directrices de bioseguridad, encontradas en el manual de bioseguridad MI-GCE-INF-MA-01.

3. Inspeccione el cajón de tarjetas en busca de objetos extraños, suciedad o polvo. Si se descubre alguno en la bandeja, retírelo y limpie la superficie con solución de alcohol al 70% y un paño sin pelusas nuevo.

4. Limpie la pantalla del monitor con un paño humedecido en alcohol y séquela con un paño suave.

5. Utilice un paño humedecido en alcohol o limpiacristales para limpiar la cubierta transparente del sistema y el espejo del interior del instrumento. Utilice un paño sin pelusas para secarlos.

6. Limpie los siguientes elementos y áreas inicialmente hipoclorito sódico en agua al 1% (v/v) y posteriormente una solución de peróxido de hidrógeno al 3%, o paños desinfectantes comercialmente disponibles que contengan hipoclorito sódico al 1%. Para la limpieza, utilice un paño sin pelusas humedecido.

- Gradillas de muestras, deben limpiarse entre una serie y la siguiente.
- Superficie de las mesas del laboratorio.
- Elementos auxiliares como pipeteadores, vórtex, gradillas de tubos, etc.
- Superficies de trabajo interiores y exteriores del equipo BD MAX (se recomienda limpiar las superficies exteriores de BD MAX antes que las interiores), excepto la superficie de vidrio del cajón de tarjetas (se recomienda colocar las tarjetas para PCR sin utilizar en los cajones de tarjetas durante la limpieza; de este modo, se protegen las superficies de vidrio de cualquier salpicadura accidental de limpiadores abrasivos o corrosivos).

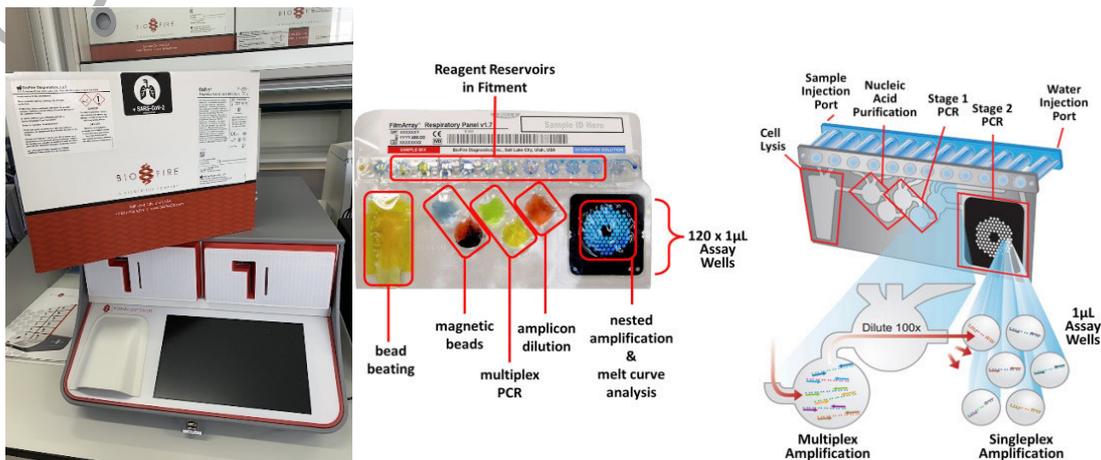
Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 55 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

7. Con un movimiento unidireccional, limpie bien todas las partes del sistema que hayan entrado en contacto con el hipoclorito sódico (inhibidor conocido de la PCR) con un paño sin pelusas humedecido con agua desionizada y, a continuación, con alcohol al 70%.
8. Encienda el instrumento BD MAX.

8.31. BIOFIRE PANEL RESPIRATORIO 2.1 (RP2.1) FILMARRAY



El BioFire Panel respiratorio 2.1 (RP2.1) es una prueba de ácido nucleico multiplexada destinada a la detección y diferenciación cualitativas simultáneas de ácidos nucleicos de múltiples organismos respiratorios virales y bacterianos.

Muestra requerida: Hisopado nasofaríngeo (NPS) recolectado de acuerdo con la técnica estándar y colocado inmediatamente hasta 3 mL de medio de transporte.

Método toma de la muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento

- Las muestras deben procesarse y analizarse con BioFire RP2.1 lo antes posible.
- Si se requiere almacenarse, se pueden retener las muestras:
 - ✓ A temperatura ambiente hasta por 4 horas (15-25 °C)
 - ✓ Refrigeradas hasta por 3 días (2-8 °C)
 - ✓ Congeladas (≤ -15 °C o ≤ -70 °C) (hasta por 30 días)

Nota: Las muestras de NPS no se deben centrifugar antes de la prueba.

Nota: El cloro puede dañar los organismos/ácidos nucleicos dentro de la muestra, lo que puede causar resultados falsos negativos. Se debe evitar el contacto entre el cloro y las muestras durante los procedimientos de recolección, desinfección y prueba.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 56 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Principio de la prueba:

BioFire RP2.1 es una prueba de reacción en cadena de polimerasa multiplexada anidada en tiempo real diseñada para identificar simultáneamente ácidos nucleicos de 22 virus y bacterias diferentes asociados con la infección de las vías respiratorias, incluido el SARS-CoV-2, de una sola muestra de hisopo nasofaríngeo (NPS).

- En concreto, los cebadores de SARS-CoV-2 están diseñados para detectar el ARN del SARS-CoV-2 en hisopos nasofaríngeos en medios de transporte de pacientes sospechosos de COVID-19. Los controles internos se utilizan para monitorear todas las etapas del proceso de la prueba.
- Es un sistema cerrado desechable que almacena todos los reactivos necesarios para la preparación de la muestra, la transcripción inversa, la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y la detección con el fin de aislar, amplificar y detectar el ácido nucleico de múltiples patógenos respiratorios dentro de una sola muestra de NPS.

FilmArray permite obtener resultados de múltiples patógenos aproximadamente en 45 minutos.

- Durante una corrida, el Sistema FilmArray
- Lisis la muestra mediante agitación (molino de bolas) además de la lisis química mediada por el amortiguador de muestra.
- Extrae y purifica todos los ácidos nucleicos de la muestra utilizando la tecnología de gránulos magnéticos.
- Realiza la PCR múltiple anidada al realizar primero la transcripción inversa, seguida de una reacción de PCR de primera etapa multiplexada (PCR1). Después se realizan múltiples reacciones de PCR de segunda etapa (PCR2) en la matriz para identificar las secuencias dentro de los productos de PCR1.
- Utiliza los datos de curva de fusión según el criterio de evaluación para detectar las ampliaciones específicas de la diana y analiza los datos para generar un resultado para cada analito en el BioFire RP2.1.

Preparación de reactivos:

Cada kit contiene suficientes reactivos para analizar 30 muestras (kit de prueba de 30; 423738):

- Cartuchos BioFire RP2.1 empaquetados individualmente
- Ampolleta de amortiguador de muestra (1.0 mL) de un solo uso
- Viales de inyección de hidratación prellenadas de un solo uso (1.5 mL) (azul)
- Viales de inyección de muestra de un solo uso (rojo)
- Pipetas de transferencia empacadas individualmente.

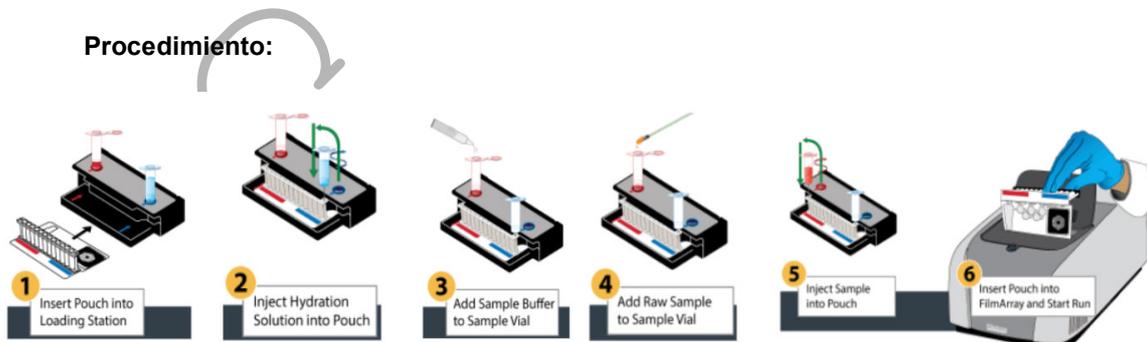
Almacenamiento de reactivos:

- Almacenar el kit de prueba, incluidos los cartuchos de reactivos y amortiguadores, a temperatura ambiente (15-25 °C). NO REFRIGERAR.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- Evitar almacenar cualquier material cerca de ventilas de calefacción o refrigeración o bajo luz solar directa.
- Todos los componentes del kit deben almacenarse y utilizarse juntos. No utilizar los componentes de un kit con los de otro kit. Desechar todos los componentes adicionales del kit después de que se hayan consumido todos los cartuchos.
- No retirar los cartuchos de su acondicionamiento hasta que una muestra esté lista para ser analizada. Una vez que se haya abierto el acondicionamiento del cartucho, el cartucho debe cargarse lo antes posible (en aproximadamente 30 minutos).
- Una vez que se haya cargado un cartucho, la prueba se debe iniciar lo antes posible (en aproximadamente 60 minutos) No exponer un cartucho cargado a temperaturas superiores a 40 °C (104 °F) antes de la prueba.

Procedimiento:



A. Preparar el cartucho

1. Insertar el cartucho en la Estación de carga de cartuchos, alineando las etiquetas rojas y azules en el cartucho con las flechas rojas y azules en la Estación de carga de cartuchos.
2. Colocar un vial de inyección de muestra con tapa roja en el pocillo rojo de la estación de carga de cartuchos.
3. Colocar un vial de inyección de hidratación con tapa azul en el pocillo azul de la estación de carga de cartuchos.

B. Hidratar el cartucho

1. Destapar el vial de inyección de hidratación de la tapa azul.
2. Retirar el vial de inyección de hidratación, dejando la tapa azul en la estación de carga de cartuchos BioFire.
3. Insertar la punta de la cánula en el vial de inyección de hidratación en el puerto de hidratación del cartucho ubicado directamente abajo de la flecha azul.
4. Empujar con fuerza hacia abajo con un movimiento firme y rápido para perforar el sello hasta que se escuche un leve "estallido".
5. Verificar que el cartucho se haya hidratado.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 58 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

C. Preparar la mezcla de las muestras

1. Añadir amortiguador de muestra al vial de inyección de muestra.
2. Mezclar bien la muestra de NPS por vórtice o inversión.
3. Utilizar la pipeta de transferencia proporcionada en el kit de prueba para extraer la muestra a la tercera línea (aproximadamente 0.3 mL).
4. Cerrar herméticamente la tapa del vial de inyección de muestra y desechar la pipeta de transferencia en un contenedor de residuos de peligro biológico.
5. Retirar el vial de inyección de muestra de la estación de carga de cartuchos e invertir el vial al menos 3 veces para mezclar.
6. Regresar el vial de inyección de muestra al pocillo rojo de la estación de carga de cartuchos.

D. Cargar la mezcla de la muestra

1. Desenroscar el vial de inyección de muestra de la tapa roja y esperar 5 segundos con el vial descansando en la tapa.
2. Levantar el vial de inyección de muestra, dejando la tapa roja en el pocillo de la estación de carga de cartuchos e insertar la punta de la cánula del vial de inyección de muestra en el puerto de muestra del cartucho ubicado directamente debajo de la flecha roja de la estación de carga de cartuchos.
3. Verificar que la muestra se haya cargado.
4. Registrar la ID de la muestra en el área proporcionada en la etiqueta del cartucho (o adjuntar una ID de la muestra con código de barras) y retirar el cartucho de la estación de carga de cartuchos FilmArray.

E. Correr el cartucho

1. Colocar el cartucho en un módulo, ingresar el cartucho, la muestra y la información del operador.
2. La identificación del cartucho (número de lote y número de serie), el tipo de cartucho y la información del protocolo se ingresarán automáticamente cuando se escanee el código de barras.
3. Para reducir los errores de ingreso de datos, se recomienda encarecidamente ingresar la información del cartucho escaneando el código de barras.
4. La ID de la muestra se puede ingresar o escanear manualmente utilizando el escáner de código de barras cuando se usa una ID de muestra con código de barras.
5. Si es necesario, seleccionar o confirmar el protocolo apropiado para su tipo de muestra de la lista desplegable Protocolo. El BioFire RP2.1 tiene un protocolo único disponible en la lista desplegable.
6. Ingresar un nombre de usuario y contraseña en los campos Nombre y Contraseña.
7. Revisar la información de la corrida ingresada en la pantalla. Seleccionar Iniciar corrida.
8. Cuando finalice la corrida, seguir las instrucciones en la pantalla para quitar el cartucho, luego desecharlo de inmediato en un contenedor de residuos de peligro biológico.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD <small>Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</small>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

9. El archivo de la corrida se guarda automáticamente en la base de datos de FilmArray, y el informe de prueba se puede ver, imprimir o guardar como un archivo PDF.

8.32. CONTROL DE CALIDAD

- **Controles del proceso de ARN**

El ensayo de control del proceso de ARN se dirige a una transcripción de ARN de la levadura *Schizosaccharomyces pombe*. La levadura está presente en el cartucho en forma liofilizada y se vuelve a hidratar cuando se carga la muestra.

El material de control se lleva a través de todas las etapas del proceso de prueba:

- Lisis.
- La purificación de ácido nucleico.
- La transcripción inversa
- La PCR1.
- La dilución.
- La PCR2 y la fusión del ADN.

Nota: Un resultado de control positivo indica que todos los pasos realizados en el cartucho BioFire RP2.1 fueron exitosos.

- **Control de la PCR2**

El ensayo de control de la PCR2 detecta una diana de ADN que se seca en los pocillos de la matriz junto con los cebadores correspondientes.

- Un resultado positivo indica que la PCR2 tuvo éxito.

Nota: Ambos ensayos de control deben ser positivos para que cumpla con la prueba. Si los controles no cumplen, la muestra se debe volver a analizar con un nuevo cartucho.

Interpretación de resultados:

- a) Cuando se completa la PCR2, el instrumento realiza un análisis de la fusión del ADN de alta resolución en los productos de PCR y mide la señal de fluorescencia generada en cada pocillo (véase el Manual del operador del Sistema BioFire FilmArray correspondiente para obtener más información). El Software BioFire FilmArray realiza varios análisis y asigna un resultado final del ensayo.

BioFire® Panel respiratorio 2.1		BIO FIRE www.BioFireDx.com	
Resumen de la corrida			
ID de la muestra:	RP2.1xample	Fecha de la corrida:	4 de abril de 2020
Detectado:	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2)	Control:	5:21 PM Cumplieron
Equívoco:	Influenza A		
Resumen del resultado			
Virus			
No detectado	Adenovirus		
No detectado	Coronavirus 229E		
No detectado	Coronavirus HKU1		
No detectado	Coronavirus NL63		
No detectado	Coronavirus OC-43		
✓ Detectado	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2)		
No detectado	Metapneumovirus humano		
No detectado	Rinovirus/Enterovirus humano		
↔ Equívoco	Influenza A		
No detectado	Influenza B		
No detectado	Virus de la parainfluenza 1		
No detectado	Virus de la parainfluenza 2		
No detectado	Virus de la parainfluenza 3		
No detectado	Virus de la parainfluenza 4		
No detectado	Virus sincitial respiratorio		
Bacterias			
No detectado	Bordetella parapertussis (IS 1001)		
No detectado	Bordetella pertussis (ptIP)		
No detectado	Chlamydia pneumoniae		
No detectado	Mycoplasma pneumoniae		
Detalles de la corrida			
Cartucho:	RP2.1 v1.0	Protocolo:	NPS2 v3.2
Estado de la corrida:	Finalizado	Operador:	Andrino
Núm. de serie:	01234567	Instrumento:	TMBCCF3
Núm. de lote:	012345		

Fuente: Guía rápida de utilización FilmArray. Panel respiratorio.

1. **No detectado:** No se ha detectado ningún patógeno.
2. **Detectado:** Se ha detectado un patógeno.
3. **Equívoco:** No se ha podido determinar el resultado, VUELVA ANALIZAR LA MUESTRA.

- **SARS-CoV-2**

El cartucho BioFire RP2.1 contiene dos ensayos diferentes para la detección del SARS-CoV-2. El Software BioFire FilmArray interpreta cada ensayo de forma independiente y si uno o ambos son positivos, el informe de la prueba mostrará el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2) cómo detectado. Si ambos análisis son negativos, el resultado del informe de la prueba será coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 (SARS-CoV-2) No detectado.

Para la detección de SARS-CoV-2: Gen de proteína pico (S) Y Gen de proteína de membrana (M).

- **Adenovirus**

El cartucho BioFire RP2.1 contiene cinco ensayos (Adeno2, Adeno3, Adeno6, Adeno7.1 y Adeno8) para la detección del adenovirus. Si un ensayo o cualquier combinación de ensayos es positivo, el resultado del informe de la prueba será adenovirus detectado. Si todos los ensayos son negativos, el resultado del informe de la prueba será adenovirus no detectado.

- **Influenza A**

Los ensayos de BioFire RP2.1 están diseñados para detectar la influenza A y para diferenciar los subtipos de hemaglutinina que ocurren con frecuencia. Para lograr esto, el BioFire RP2.1 utiliza dos ensayos de influenza A (FluA-pan-1 y FluA-pan-2) y tres ensayos de subtipación dirigidos al gen de hemaglutinina (FluA-H1-2, FluA-H1-2009, y FluA-H3). Cada uno de los ensayos individuales se interpreta de forma independiente y el resultado de la prueba reportado para la influenza A se basa en los resultados combinados de los cinco ensayos.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

8.32.1. IDNOW



Fuente: Abbott

ID NOW COVID-19 es una prueba molecular isotérmica rápida (13 minutos o menos) basada en instrumento para la detección cualitativa y el diagnóstico del SARS-CoV-2 a partir de hisopos nasales, nasofaríngeos y faríngeos. El instrumento ID NOW tiene unas dimensiones reducidas y una interfaz gráfica de usuario fácil de usar para ofrecer una mayor comodidad.

Muestra requerida: hisopado nasales, nasofaríngeos o faríngeos.

Método de toma de la muestra: Remitirse al manual COM-LAB-CLI-MA-01. (Toma de muestras laboratorio clínico)

Transporte y almacenamiento: Remitirse al manual Transporte conservación y remisión de muestras (COM-ADI-LAB-MA-02).

Principio del procedimiento:

ID NOW COVID-19 es un ensayo automatizado que utiliza tecnología de amplificación de ácidos nucleicos isotérmicos para la detección cualitativa de ácidos nucleicos virales del SARS-CoV-2.

- Se compone de un receptor de muestras, que contiene un tampón de elución/lisis, una base de prueba, que consta de dos tubos de reacción sellados (cada uno con un sedimento liofilizado), un cartucho de transferencia para transferir la muestra eluida a la base de prueba y el ID NOW.
- Los tubos de reacción contienen los reactivos necesarios para la amplificación del SARS-CoV-2, así como un control interno.
- Las plantillas (similares a los cebadores), diseñadas para dirigirse al ARN del SARS-CoV-2, amplifican una región única del segmento RdRp.
- Las balizas moleculares con marcadores fluorescentes se utilizan para identificar específicamente cada una de las dianas de ARN amplificadas.

Nota Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
 MI-SIG-CDO-FT-06 V1 Página 62 de 82

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

- La muestra se agrega al receptor de muestras y se transfiere a través del cartucho a la base de prueba, iniciando la amplificación de la diana.

Para mayor información sobre el montaje, procesamiento e interpretación de resultados dirigirse al documento Manejo y Procesamiento de Muestras para el diagnóstico COVID-19 por Método de Biología Molecular (COM-LAB-CLI-PT-01).

8.33. CAPÍTULO IV CONTROL DE CALIDAD CEPAS ATCC



Fuente: Identificación de bacterias *E. Coli*.

8.33.1. Cepas atcc

Muestra requerida:

Cepas certificadas: material biológico de referencia certificado.

La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes.

Adquisición de la cepa:

Obtención directa a partir de una colección nacional e internacional reconocida, con su respectivo Registro y Certificado.

La colección que almacena la ATCC se inició en 1925, sobre una colección de bacteriología iniciada en 1911. Es una organización en la que participan actualmente 21 sociedades científicas.

En la actualidad mantiene colecciones de Bacteriología, Cultivos celulares, Plásmidos, Ácido Nucleicos y Genotecas, Micología y Botánica, Protistología y Virología.

Pasos para solicitud y envío cepas de trabajo cepas ATCC:

1. Solicitar las cepas con las que no cuente el Laboratorio de Microbiología en un oficio dirigido al Laboratorio de Salud Pública, de acuerdo a las necesidades según el perfil epidemiológico del Hospital para ser utilizadas en el control de calidad interno según cronograma.

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

2. En formato interno del Laboratorio de Salud Pública 040VE0202F07 serán relacionadas las cepas enviadas teniendo en cuenta el Microorganismo (Género y especie), No. Cepa ATCC, No. Lote y el medio de transporte utilizado.
3. Al recibir las cepas la persona responsable de Microbiología revisará la conformidad de la cepa y la registrará en el formato.

Instrucciones de manejo:

- El Laboratorio de Microbiología una vez recibida la cepa verifica su pureza y viabilidad.
- Las cepas de referencia deben ser almacenadas a -70°C a -20°C .
- De lo contrario almacenarlas de 4 a 8°C hasta su uso.
- Verificar en el formato que la cepa no varíe sus características macroscópicas, microscópicas, bioquímicas y de resistencia.
- En caso de presentar variaciones no la utilice para control de calidad.

Almacenamiento y conservación de las cepas:

- Las cepas remitidas por el Laboratorio de Salud Pública son cepas preparadas y conservadas en el laboratorio y deben ser almacenadas en un lugar especial (CEPARIO), señalando claramente de que se trata de cepas potencialmente peligrosas y cuya manipulación queda restringida al personal autorizado, quien cuenta con los medios de protección necesarios y deben ser destinadas para uso exclusivo en control de calidad en el laboratorio.
- La cepa no debe ser remitida a otro laboratorio, ni utilizarse para otro fin.
- Se pueden transportar en Gelatina.
- Se pueden almacenar en leche descremada, ácido ascórbico, dextrosa y carbón activado los cuales son agentes crioprotectores que preservan la pared celular, evitando la deshidratación por congelación y el carbón activado neutraliza las sustancias tóxicas generadas por la liofilización.

Manejo cepas adquiridas comercialmente:

1. Cada cepa liofilizada viene en un contenedor plástico contenido en una bolsa herméticamente empacada y se deben manipular de la siguiente manera:
2. Rompa el empaque y remueva el contenedor plástico que contiene la cepa, márquelo con la etiqueta proporcionada.
3. Ejercer presión sobre la parte que contiene la ampolla para que la cepa se hidrate con el medio que contiene.
4. Manténgalo en posición vertical y mézclelo ejerciendo presión sobre la parte inferior del contenedor.
5. Inmediatamente que el aplicador se haya empapado de la cepa inocule en los medios primarios en caja presionando suavemente el aplicador sobre la superficie del medio y por movimientos circulares en un área aproximada de 25 mm de diámetro.
6. Usando un asa estéril, extienda el área inoculada unas 10 a 20 veces para facilitar el aislamiento de la cepa.

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 64 de 82**

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

7. Descartar de manera correcta el escobillón en recipiente para corto punzantes.
8. Incubar las cajas inoculadas inmediatamente 18 a 24 horas según la atmósfera de incubación de acuerdo al germen.
9. A las 24 horas hacer un repique de éste primer aislamiento en otros medios primarios y volver a incubar 18 a 24 horas.
10. De este segundo repique hacer las pruebas de control de calidad interno tanto para identificación como para pruebas de susceptibilidad, registrar en los formatos establecidos.
11. De este segundo repique igualmente se realiza el almacenamiento de las cepas de trabajo para ser utilizados posteriormente en CALDO TRIPTICASA O TIOGLICOLATO CON GLICEROL AL 2%. (Se prepara con 8 cc de caldo tripticasa o tioglicolato más 2 cc de glicerol y se esteriliza a 15 libras de presión 15 minutos) También se puede utilizar medios de almacenamiento con perlas. Se hace una suspensión 0.5 de McFarland y de ésta se pasan al medio con glicerol o al medio con perlas para almacenarlas a -20°C en congelador que produce escarcha.
12. Se pueden almacenar hasta un año mientras se mantengan las condiciones de congelación.
13. Según cronograma se saca una perla impregnada con la cepa y se pasa sobre la superficie de los medios primarios para su recuperación y procesamiento y éstos pases sólo se pueden utilizar para las pruebas no se puede hacer repiques para almacenarlos nuevamente.
14. Registrar en el formato establecido guardar junto con el inserto y certificado de las cepas en el A-Z de Control de Calidad Externo de Microbiología.

Clasificación de las cepas:

Cepas de referencia:

Cepas que sirven para demostrar la trazabilidad y autenticidad de las metodologías y controles hechos por el Laboratorio de Microbiología ante la ATCC y Organismos de Verificación. Deben obtenerse de una colección con la reseña nacional o internacional de cultivo de referencia reconocido. Son microorganismos definidos por lo menos a niveles de género y especie, catalogados, caracterizados y de origen conocido.

El número de repiques a partir de la cepa de referencia debe ser limitado, aceptándose hasta cuatro pases como máximo a partir de la cepa o semilla original de referencia.

Cepa de reserva:

Son cepas logradas mediante un único subcultivo de una cepa de referencia. Almacenadas en congelación a -20°C , una vez descongeladas para su uso no deben volver a congelarse.

Cepa de trabajo:

Se obtienen por subcultivo de las Cepas de Reserva.

Se sub cultiva en medios sólidos de enriquecimiento apropiados para cada microorganismo. Se debe realizar control de crecimiento, productividad y selectividad y registrar en el formato establecido.

Reconstitución de la cepa:

Cepa de referencia:

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD <small>Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E</small>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

Las cepas de referencia son almacenadas entre 2-8°C hasta su uso. Se realiza subcultivo una sola vez.

Cepa de reserva:

(Se mantienen por liofilización, en nitrógeno líquido, por ultra congelación rápida) En cada vial especificar tiempo y condiciones de almacenamiento. Subcultivar una sola vez. Descongelar y reconstituir.

Cepa de trabajo

- En cada vial especificar tiempo y condiciones de almacenamiento.
- Son CEPA DE USO RUTINARIO PARA CONTROL DE CALIDAD
- Control de Productividad y Selectividad (formato COM-LAB-CLI-FT-34 Control Calidad Medios De Cultivo)
- Procesamiento de Paneles de Identificación y Pruebas de Sensibilidad
- CONTROL DE CALIDAD SENSIDISCOS (formato COM-ADI-LAB-FT-13 Control de Sensidiscos) CONFIRMACIÓN DE RESISTENCIAS- PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN.

Cuando utilizar las cepas ATCC:

- Cada vez que se prepare o utilice un lote nuevo de medios de cultivo.
- Cada vez que ingrese un medio de cultivo nuevo al Laboratorio.
- Cada vez que un medio de cultivo supere su fecha de caducidad.
- Semanalmente o por lo menos cada quince días para todos los procedimientos de Identificación y Pruebas de Susceptibilidad.
- Diariamente en los controles de coloración de Gram en cada turno.

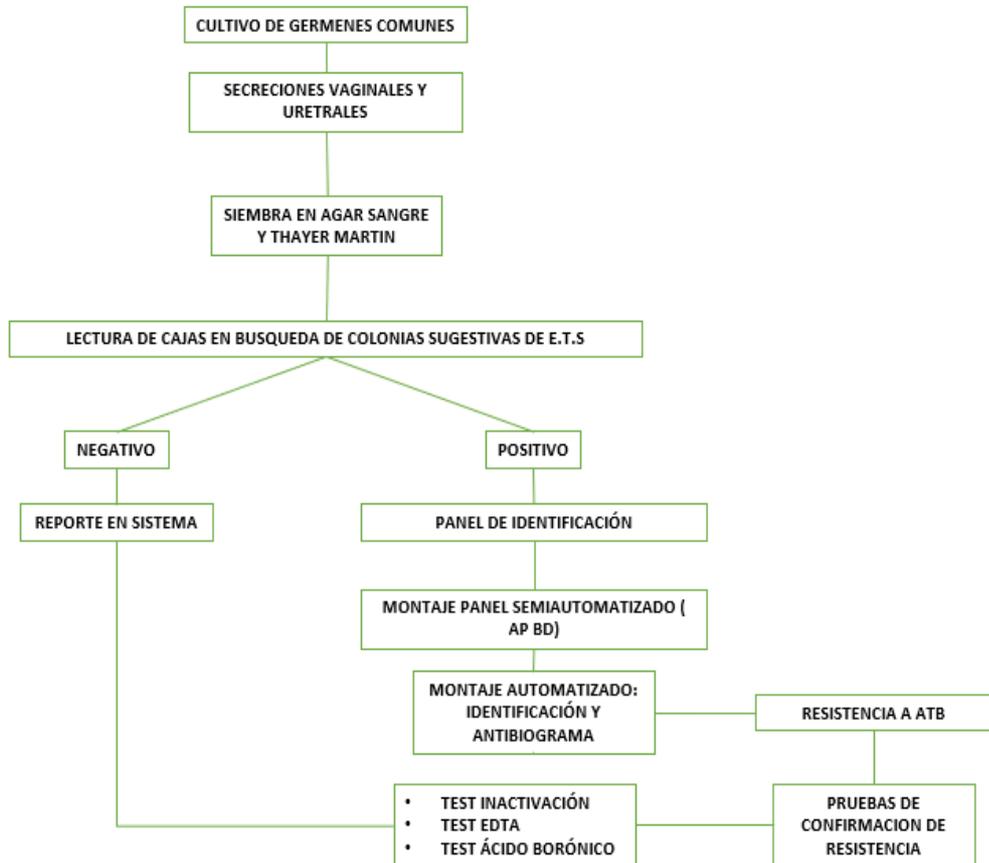
Utilidad de los cultivos de referencia ATCC en el QC interno:

1. Evaluar la calidad de los medios de cultivo utilizados y/o preparados en el Laboratorio.
2. Asegurar la calidad de los resultados de ensayos de laboratorio como coloraciones y desempeño de reactivos y de los paneles de identificación y de susceptibilidad.
3. Validar métodos microbiológicos como las pruebas de sensibilidad manuales y otras pruebas de identificación manuales.

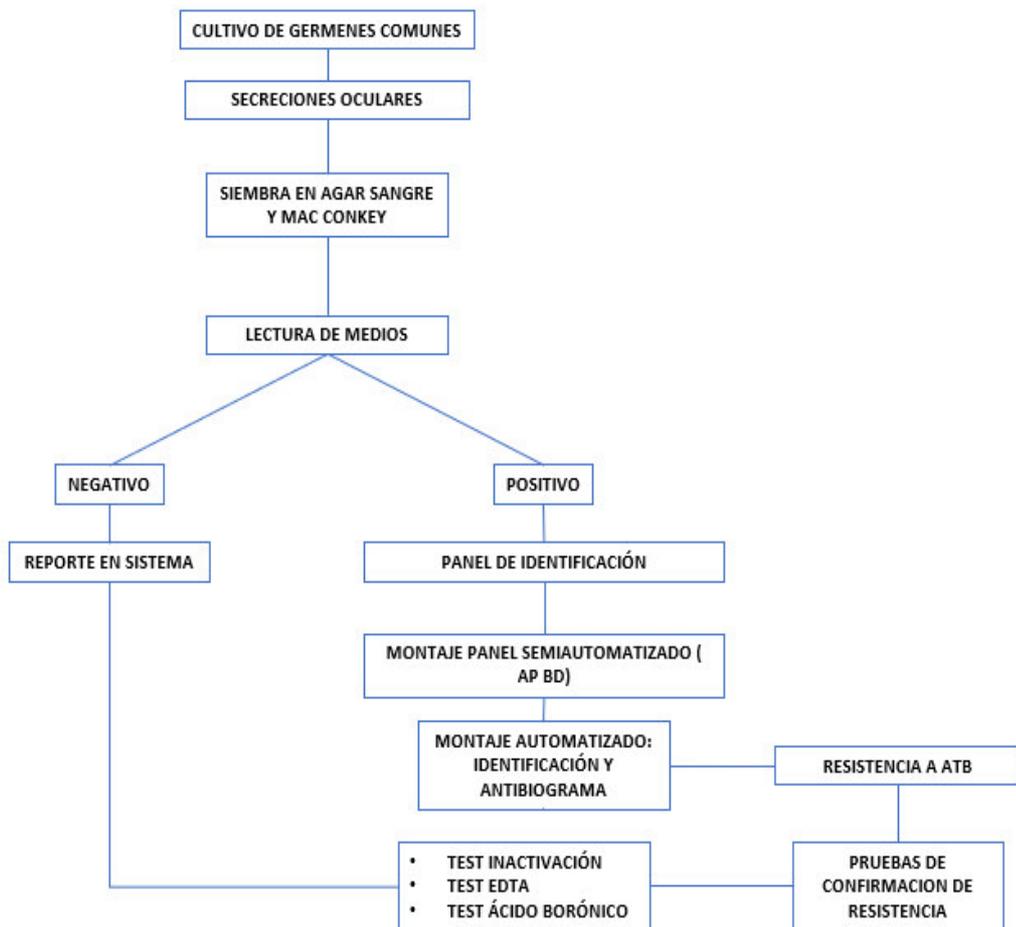
8.34. CAPITULO V: ALGORITMOS DE IDENTIFICACION EN MICROBIOLOGIA

8.34.1. Algoritmo cultivo de gérmenes comunes

8.34.2. Secreciones vaginales

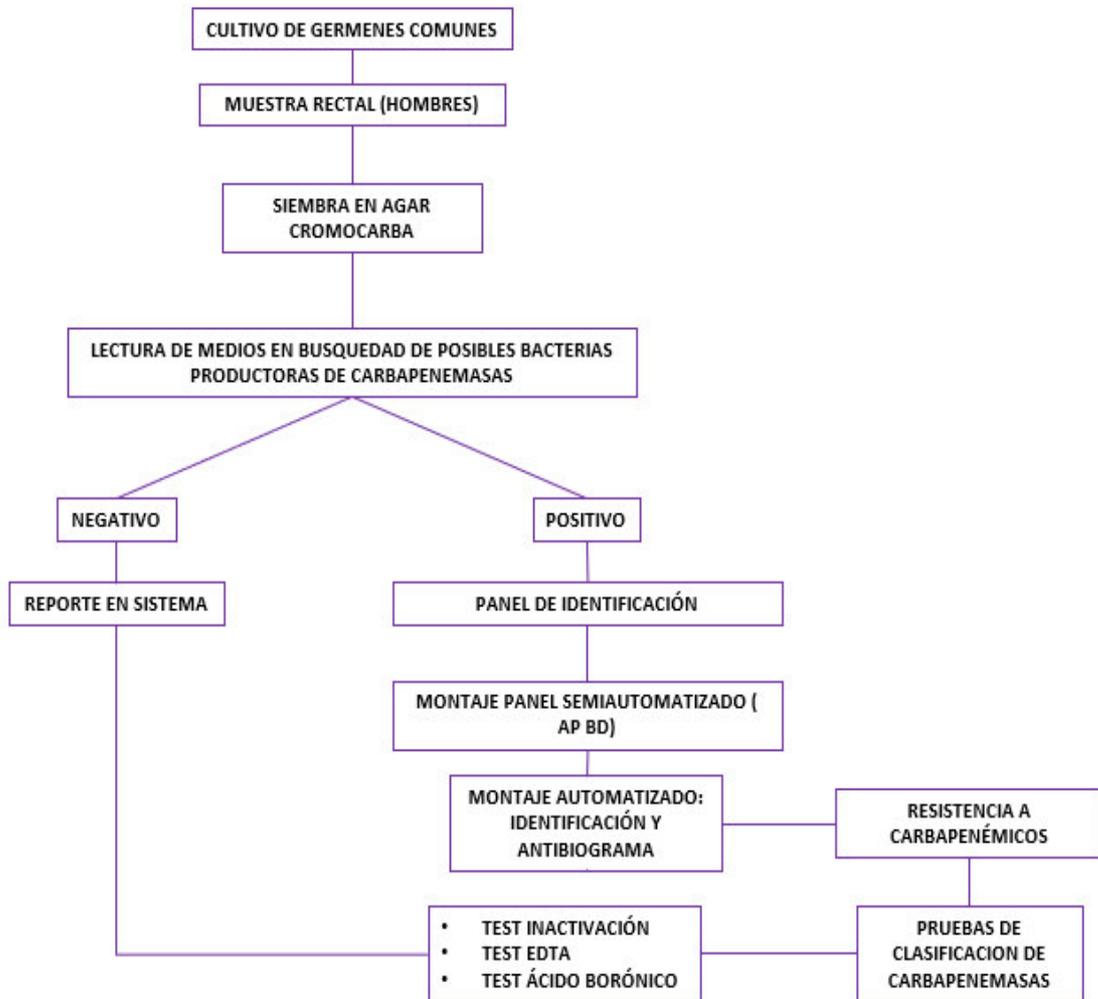


8.34.3. Secreciones oculares



 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD <small>Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.</small>	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

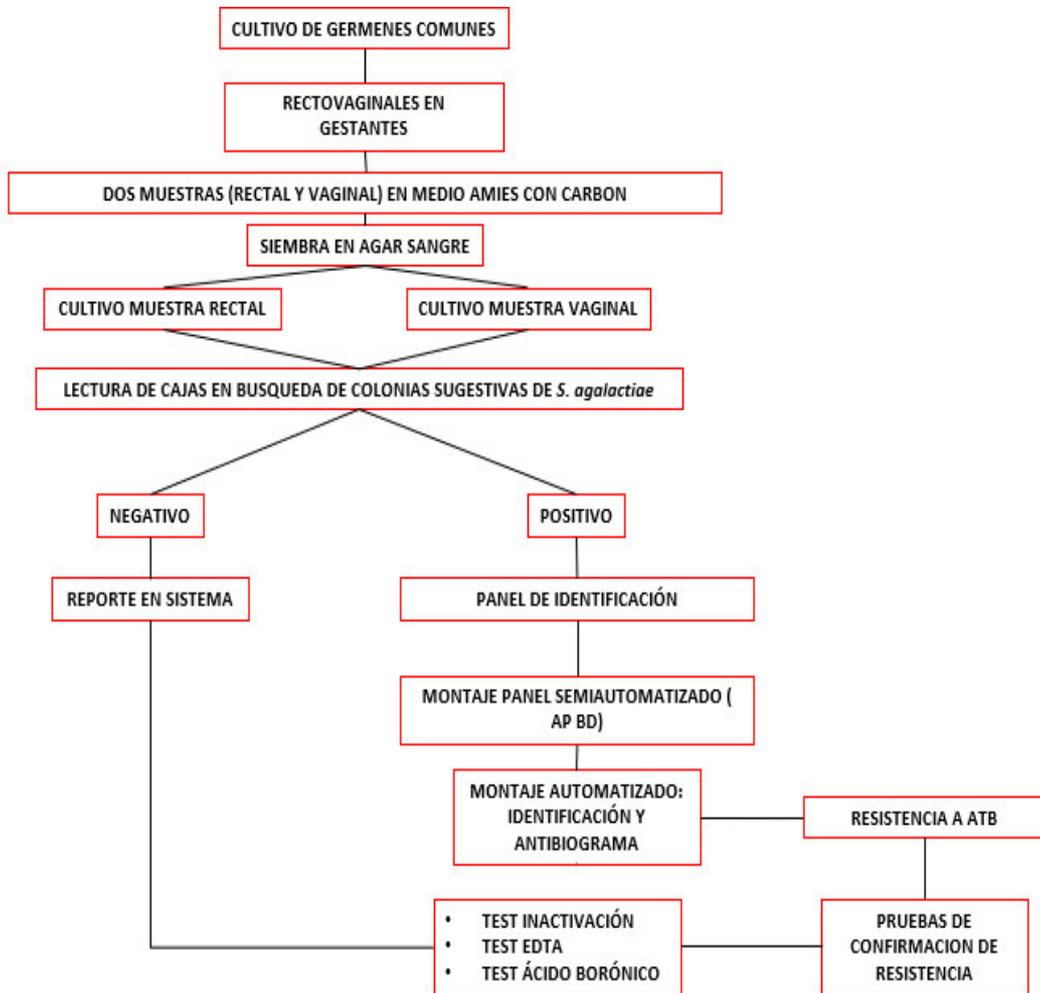
8.34.4. Secreción uretral



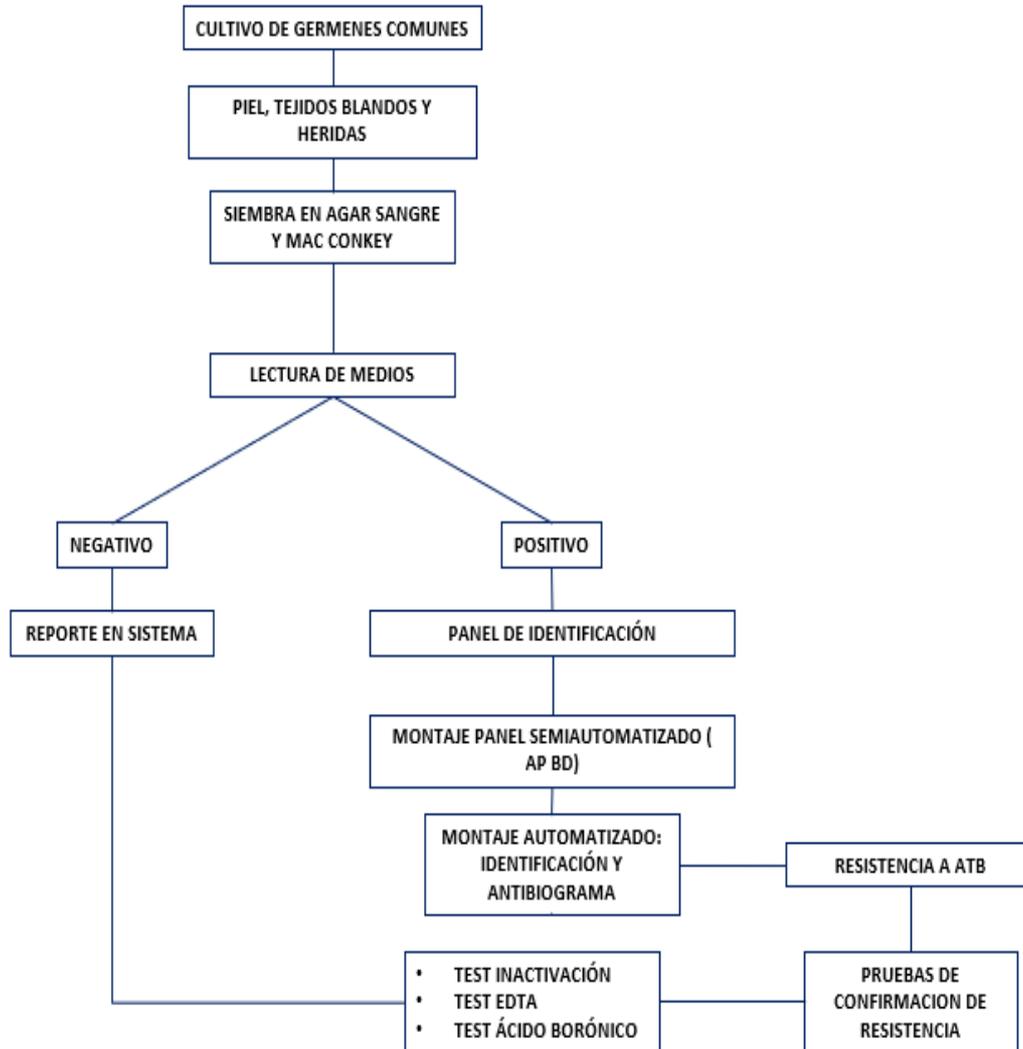
Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10

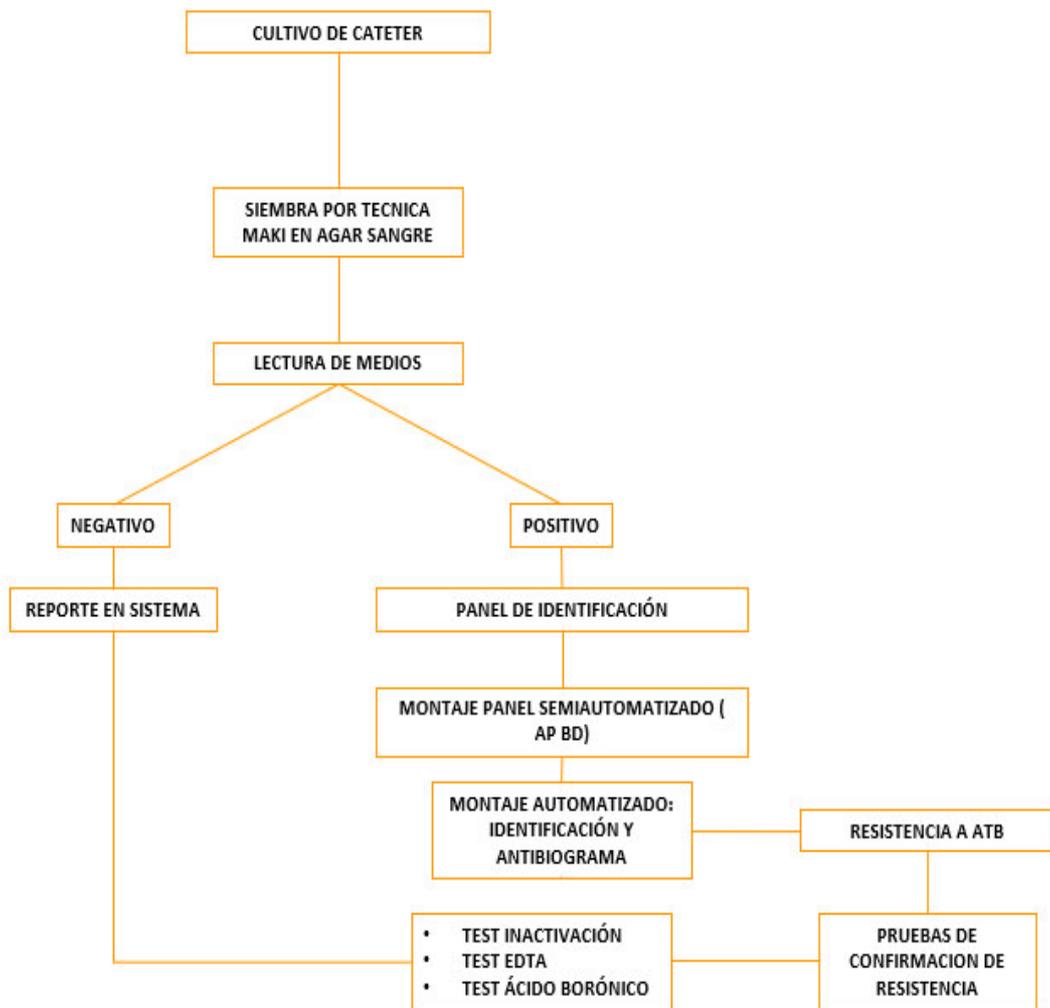
8.34.5. Rectovaginales



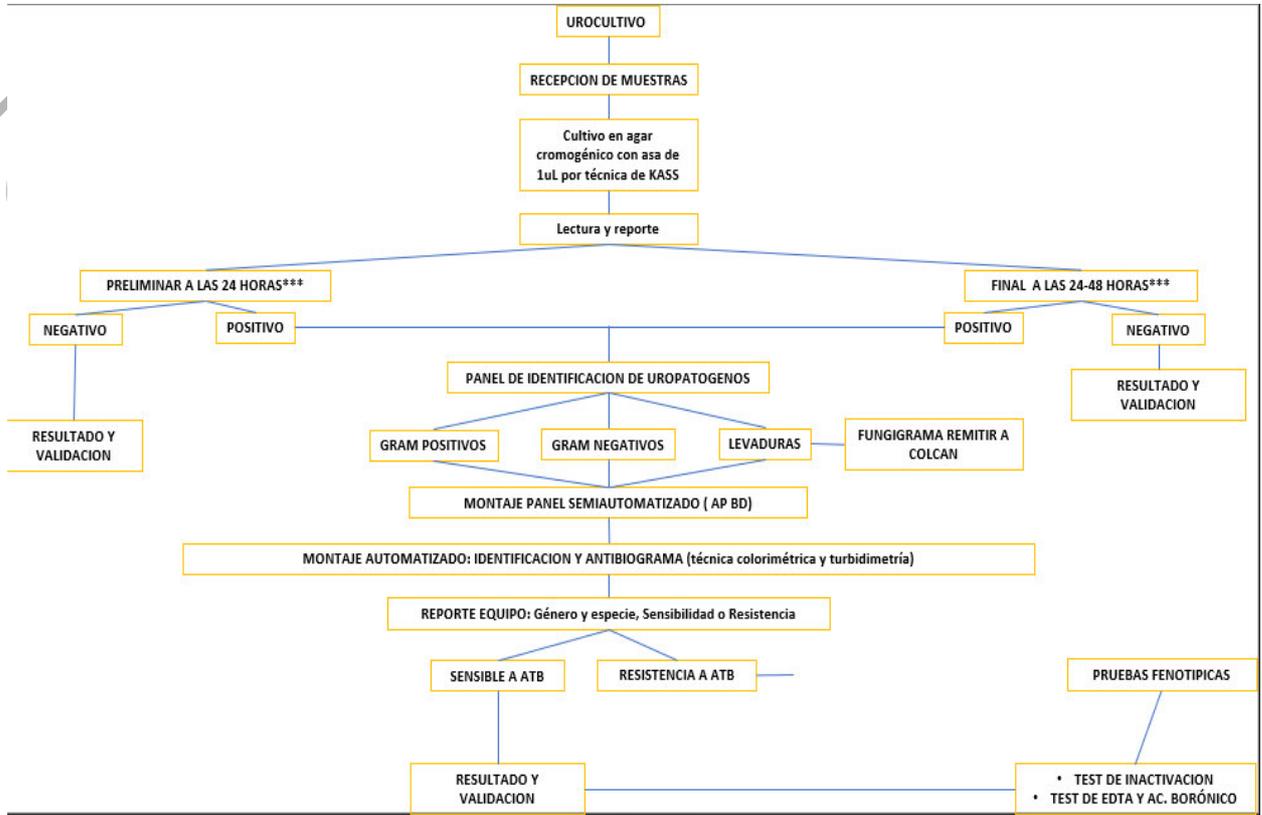
8.34.6. Piel, tejidos blandos y heridas



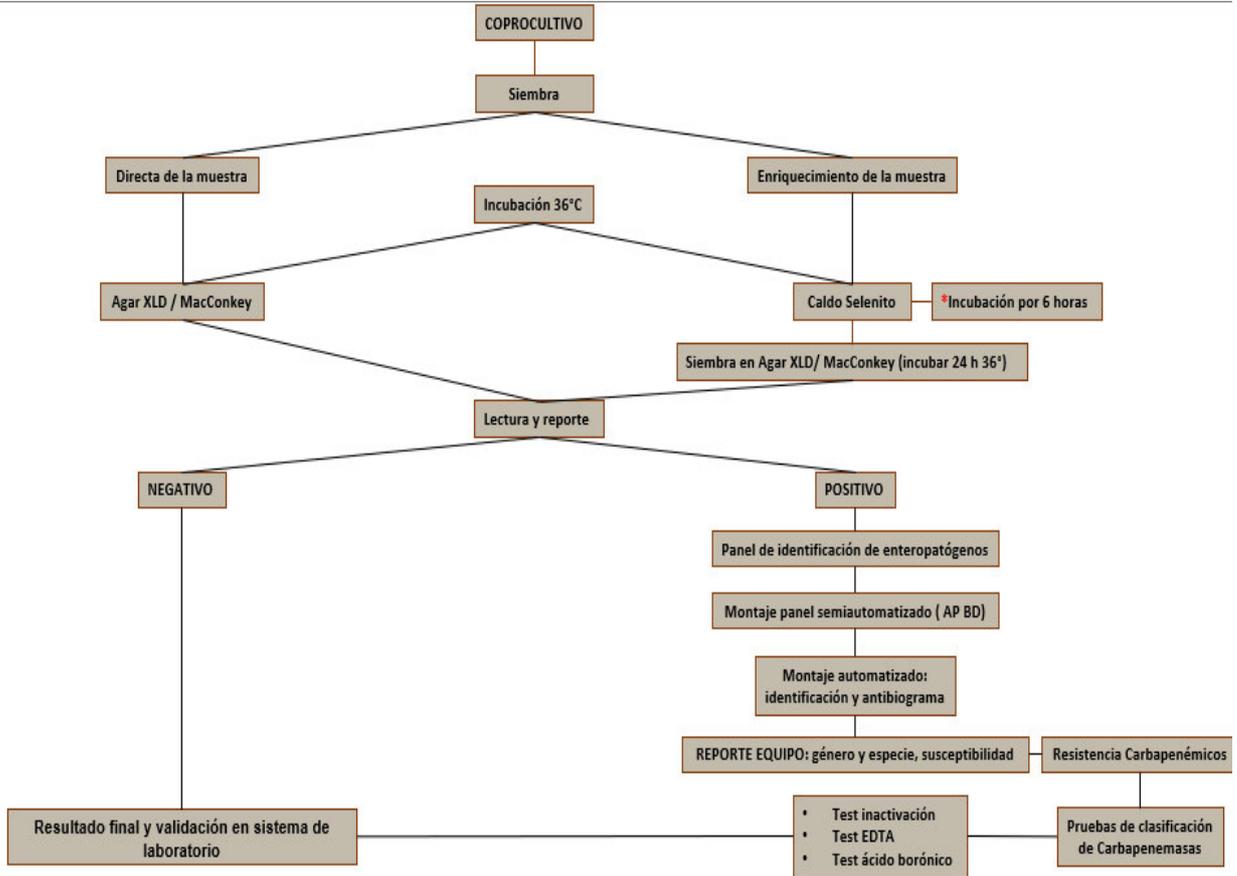
8.34.7. Cultivo catéter



8.34.8. Algoritmo - urocultivos



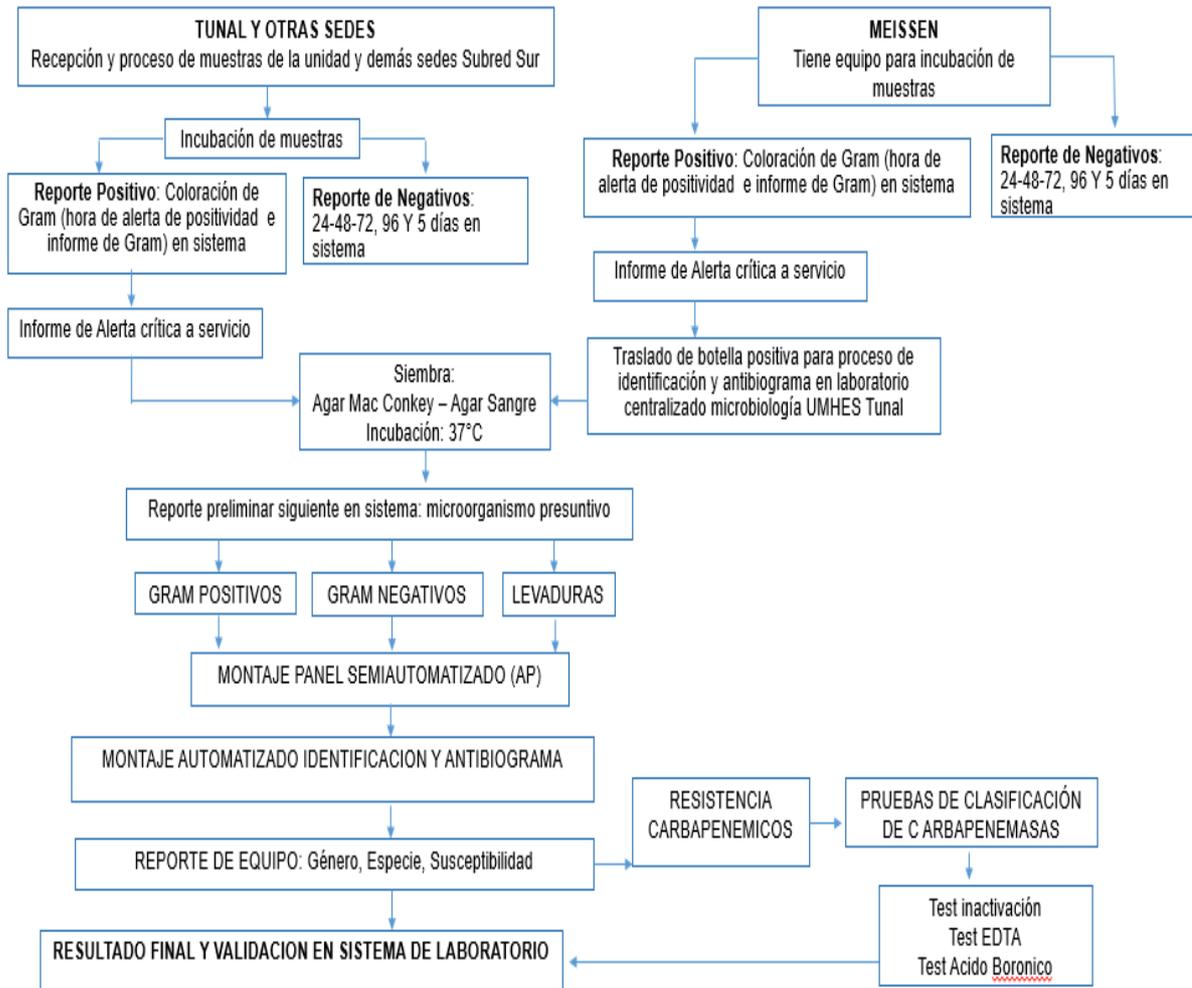
8.34.9. Algoritmo coprocultivos



***NOTA:** El enriquecimiento en caldo selenito se debe incubar por 6 horas, pasado ese tiempo, se procede a sembrar en los medios correspondientes

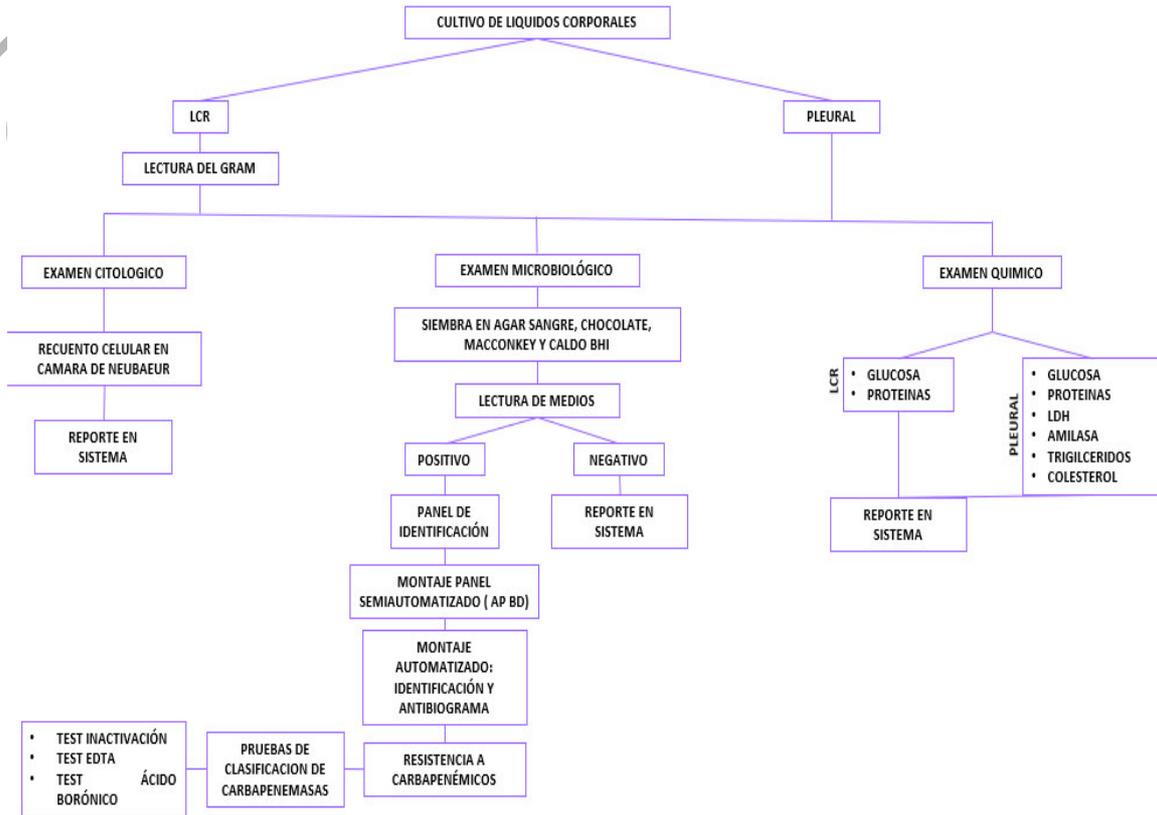
8.34.10. Algoritmo - hemocultivos

HEMOCULTIVOS AEROBIOS

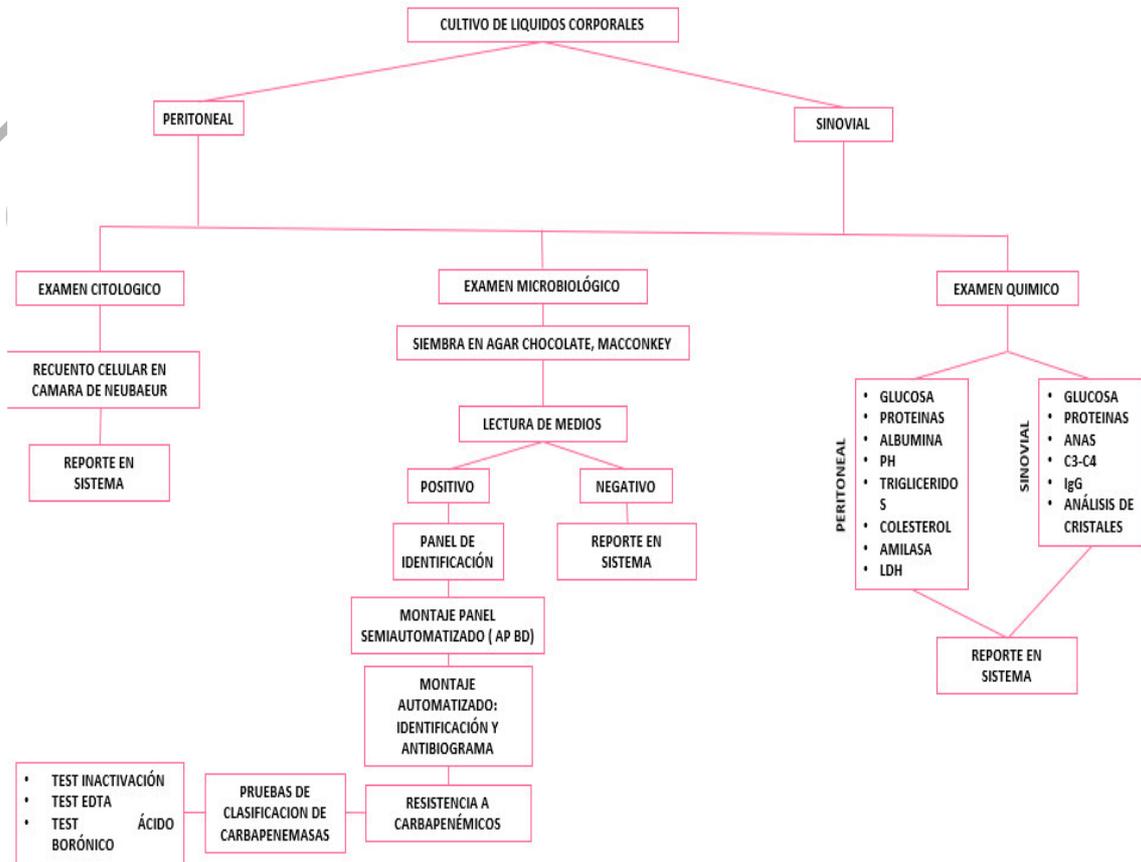


8.34.11. Algoritmo cultivo de líquidos corporales

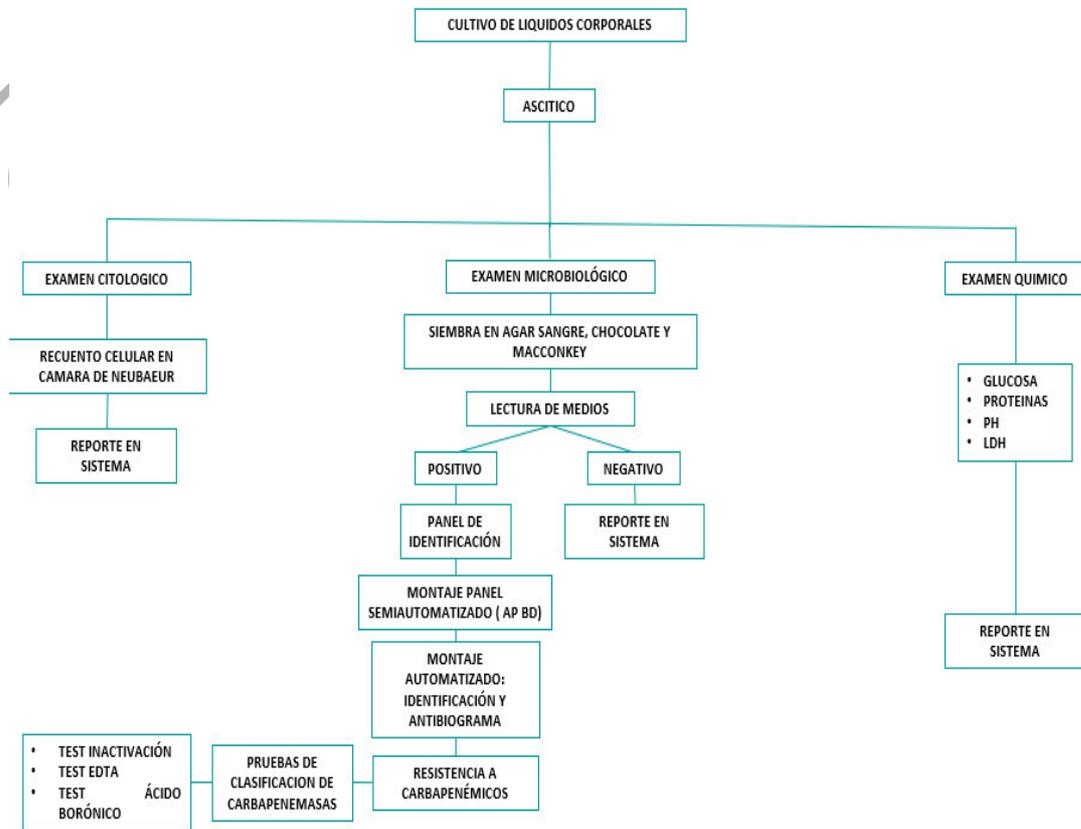
- Líquido cefalorraquídeo-líquido pleural



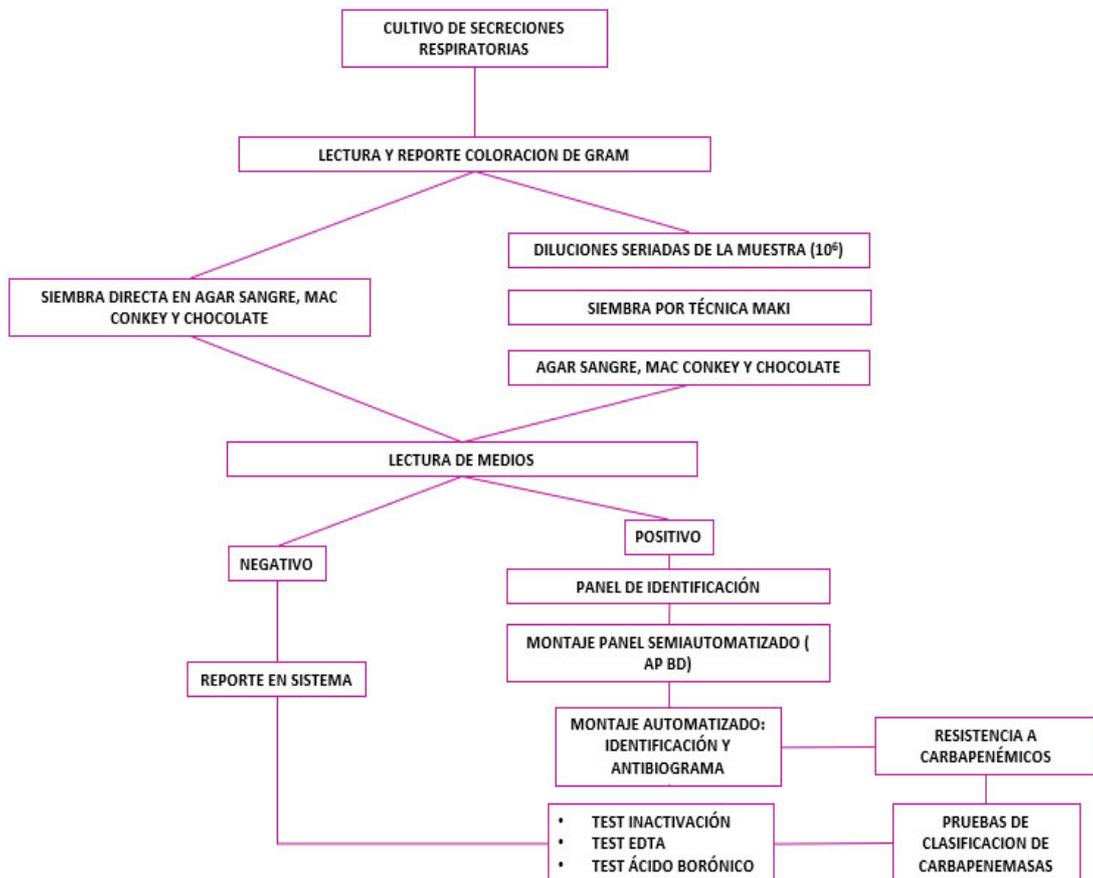
• Líquido sinovial-líquido peritoneal



- **Líquido ascítico**

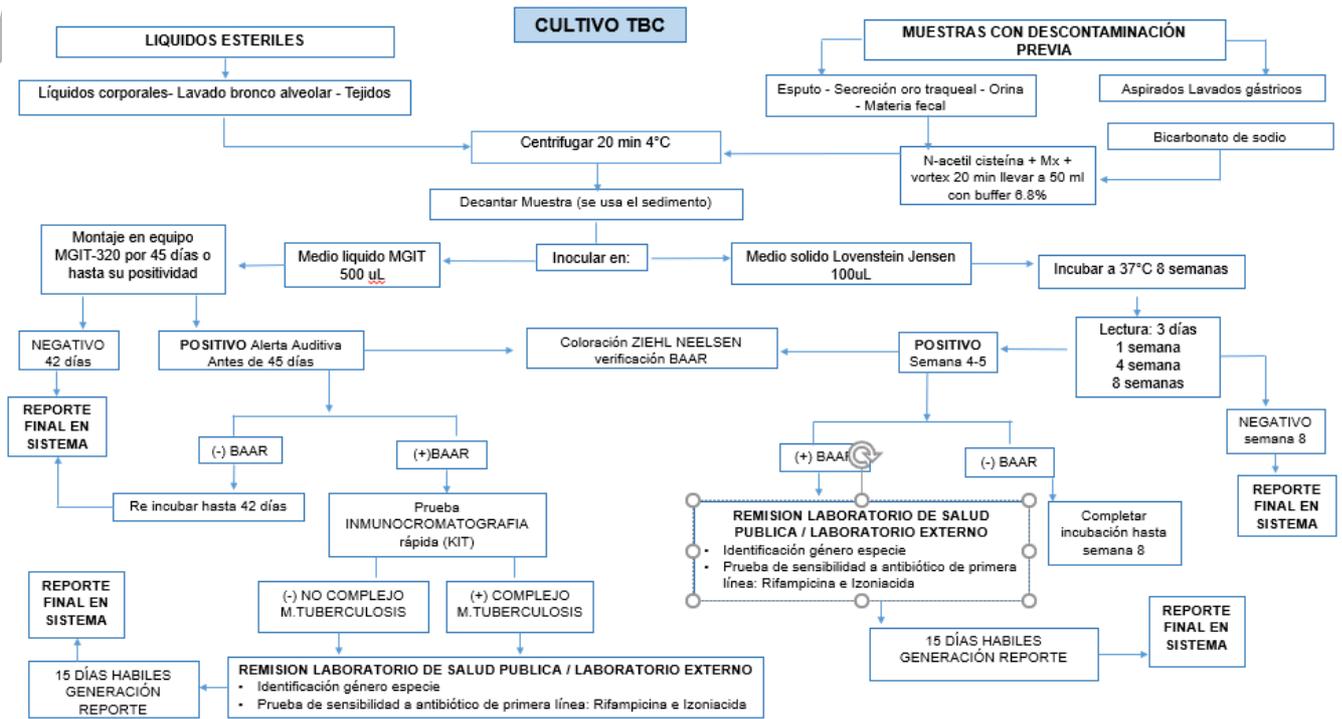


8.34.12. Algoritmo cultivo de secreciones respiratorias

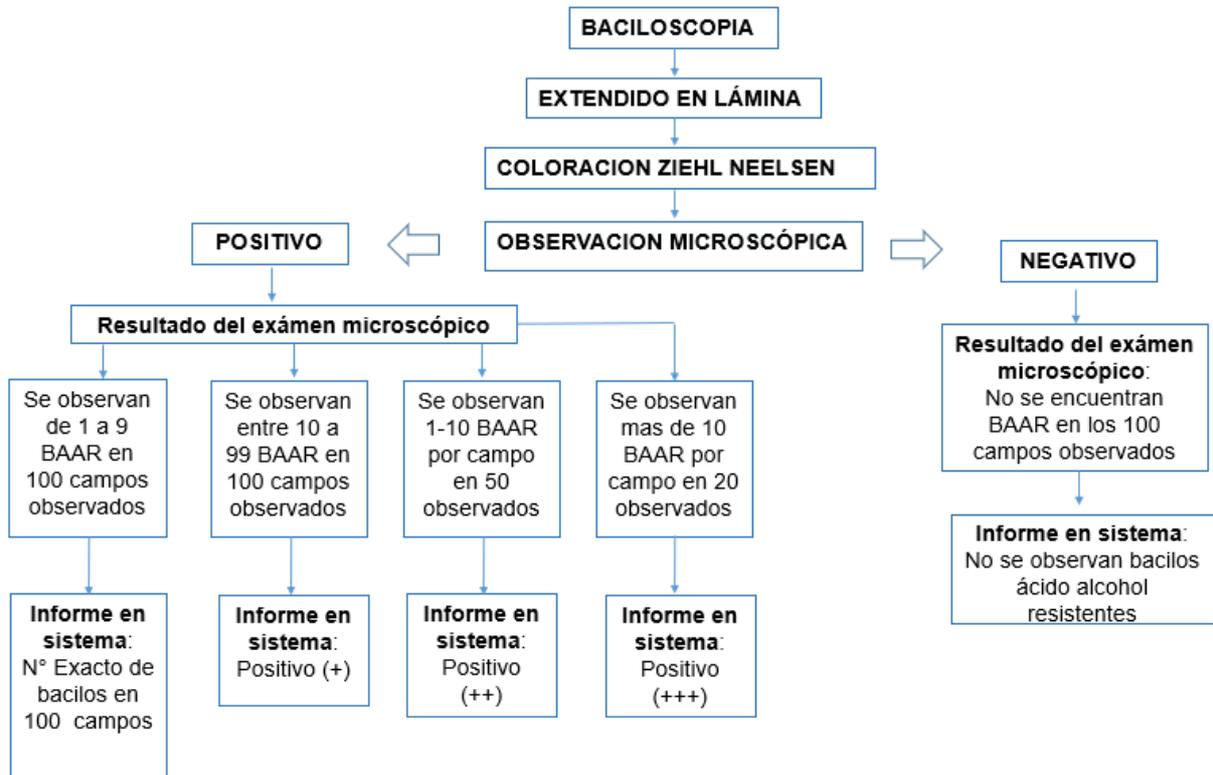


8.34.13. Algoritmo de identificación cultivo tuberculosis

- Cultivo de tuberculosis



8.34.14. Algoritmo procesamiento de baciloscopias



BOGOTÁ

 ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C. SALUD Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.	SUBRED INTEGRADA DE SERVICIOS DE SALUD SUR E.S. E	
	OPERATIVO MICROBIOLOGÍA	COM-LAB-CLI-MA-07 V3

9. CONTROL DE CAMBIOS:

FECHA	VERSIÓN	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
2017-06-08	1	Creación del documento para la Subred Integrada de Servicios de Salud Sur E.S.E.
2018-10-25	2	Adición de términos en el numeral 3, modificaciones en los numerales 5.6 a 5.8 y adición de los numerales 8.9 al 8.15. Adición de formatos en el numeral 8, cambio de nombre del protocolo.
2022-05-10	3	Se cambia de tipo documental pasa de protocolo a Manual, se cambia de código (Anterior: COM-ADI-LAB-PT-06). Actualización general del documento.

ELABORADO POR	REVISADO POR	CONVALIDADO	APROBADO
Nombre: Sharon Ochoa	Nombre: Patricia Astrid Perez Urrego	Nombre: Sandra Alba C.	Nombre: Nancy Stella Tabares Ramírez
Cargo: Bacterióloga	Cargo: Referente de Laboratorios	Cargo: Profesional especializado – Calidad	Cargo: Directora Servicios Complementarios
Fecha: 2022-05-04	Fecha: 2022-05-06	Fecha: 2022-05-10	Fecha: 2022-05-10

Notal Legal: Está prohibido copiar, transmitir, retransmitir, transcribir, almacenar, alterar o reproducir total o parcialmente, por cualquier medio electrónico o mecánico, tanto el contenido, información y texto como los procesos, procedimientos, caracterizaciones, documentos, formatos, manuales, guías, gráficas, imágenes, comunicados, etc., sin el previo y expreso consentimiento por escrito por parte de la Subred Sur ESE.; los cuales están protegidos por las normas colombianas e internacionales sobre derecho de autor y propiedad intelectual.

La última versión de cada documento será la única válida para su utilización y estará disponible 2022-05-10
MI-SIG-CDO-FT-06 V1 **Página 82 de 82**