


idime

Instituto de Diagnóstico Médico S.A.

IDIME

Guía: Guia de Actividades Seccion Microbiologia

Copia no controlada

	IDIME		Código	ID-ADLAB-GU-23
	Proceso: Apoyo Diagnóstico		Fecha	2020-07-14
	Subproceso: Laboratorio Clínico y Toma de Muestras		Versión	9.0
	Guía: Guía de Actividades Sección Microbiología			

Estratégico	Misional	Apoyo Operacional	Evaluación	Gerencial	Asistencial	Apoyo	Atención
--------------------	-----------------	--------------------------	-------------------	------------------	--------------------	--------------	-----------------

Objetivo

Dar a conocer las actividades que se realizan en las sección de microbiología del laboratorio clínico con el propósito de unificar conceptos en todo el personal que lo consulte.

Desarrollo

ALCANCE

Aplica a todas las sedes de IDIME que realicen el procesamiento de muestras.

DESARROLLO

SECCION MICROBIOLOGIA SEDES EXTERNAS

Las sedes que cuentan con área de microbiología como Valledupar, Pasto, Cucuta, Barranca, Ibagué, Neiva, Girardot, Pamplona, Zipaquirá y Chiquinquirá, deberán realizar en dicha área solamente la separación de las muestras de urocultivos para embalaje en tubos específicos para el transporte y conservación de la muestra que va ser remitida a la sede principal en Bogotá, en estas sedes NO se realizara procesamiento de ninguna muestra del área de microbiología.

En el caso de las muestras de esputo para baciloscopia se deberá realizar el montaje de la muestra en la lamina para la respectiva coloración y lectura de baciloscopia y se deberá remitir diariamente para cultivo a la sede principal en Bogotá con las condiciones de triple embalaje descritas en la GUIA DE TRANSPORTE DE MUESTRAS.

RECOMENDACIONES GENERALES

- Para el manejo de los equipos de la sección consulte las [GUÍAS RAPIDAS DE EQUIPOS BIOMEDICOS](#) en proceso de gestión tecnológica/ documentos asociados/ Guías Rápidas Equipos Biomedicos
- Teniendo en cuenta que muchas muestras llegan marcadas manualmente al laboratorio clínico y posterior a su facturación se marcan con el sticker de código de barra (muestras de referencia, muestras de piso en el caso de clínicas, etc.) **siempre** que exista un resultado de alguna prueba que haya variado significativamente frente al histórico, el bacteriólogo de procesamiento o de firma antes de proceder a la validación y/o solicitud de nueva muestra debe buscar la muestra y verificar la correcta marcación de la misma.

DESARROLLO

BIOSEGURIDAD

- Trabajar siempre en la cabina de flujo laminar con buena luz y buen espacio. En caso de no disponer de la cabina hacer uso de un mechero de bunsen.
- Emplear normas básicas de asepsia, realizando un adecuado protocolo de lavado de manos.

- Tener conocimientos específicos sobre prevención y manejo de eventos como incendios, accidentes eléctricos, accidentes generados con productos químicos, gases comprimidos, etc.
- Utilizar todos los elementos de protección personal: bata, gorro, guantes, tapabocas, monogafas.
- Contar en el laboratorio con un botiquín equipado con los elementos básicos y con fechas de vencimiento vigentes.
- Efectuar un adecuado manejo de residuos biológicos, elementos cortopunzantes, así como de procesos de descontaminación de muestras y elementos de trabajo que así lo requieran.

INDICACIONES GENERALES PARA LA RECEPCIÓN DE MUESTRAS DE MICROBIOLOGÍA

- Las muestras deben venir acompañadas de su respectiva solicitud de estudio, donde deben venir diligenciados todos los datos necesarios para el Laboratorio. En todos los casos es imprescindible: 1) nombre completo, 2) No de Identificación del paciente, 3) edad, 4) sexo, 5) servicio 6) tipo de muestra enviada y localización anatómica del proceso infeccioso 7) es conveniente consignar si el paciente recibió antibióticos en los últimos 7 días y si es así anotar nombre del mismo, dosis y vías de administración.
- Los viales, tubos o frascos donde se colocan las muestras deben ser estériles con tapa hermética. Las muestras se deben obtener, en lo posible, antes de iniciar el tratamiento antibiótico o antiviral. Cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o tras 48 horas de finalizado el tratamiento.
- En líneas generales en todas las localizaciones es necesario que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microbios exógenos, que la muestra nunca se ponga en contacto con antisépticos o desinfectantes, que la toma sea lo más precoz posible y *“siempre se prefieran los productos purulentos recogidos por aspiración directa con jeringa o tejidos sospechosos, a las muestras tomadas con hisopos o torundas de algodón.”*

UROCULTIVO

FUNDAMENTO:

Es el examen de laboratorio utilizado para cuantificar el número de bacterias presentes en la orina, sin embargo, la bacteriuria no es concluyente de una infección urinaria. No está indicada para la identificación de microorganismos anaerobios. Para cultivo de micobacterias, se recomienda utilizar el volumen total de la primera micción de la mañana.

En la inmensa mayoría de las infecciones las bacterias llegan a la vejiga por la uretra (uretritis, cistitis y prostatitis), estas pueden seguir ascendiendo hasta llegar al parénquima renal (pielonefritis). De esta manera, la uretra femenina parece ser especialmente proclive a la colonización por bacilos Gram negativos de tipo coliforme debido a su proximidad con el ano, el uso de diafragmas y espermicidas alteran profundamente la flora normal del introito, lo que se acompaña de un aumento notable de la colonización vaginal por *E coli* y de un mayor riesgo de infección urinaria. El embarazo también predispone a la infección urinaria debido a una disminución del tono y peristalsis de la uretra que se observan durante este periodo. La mayoría de las infecciones sintomáticas agudas se dan en mujeres jóvenes y son raras en hombres menores de 50 años. En hombres mayores la prostatitis o la obstrucción uretral por hipertrofia prostática son factores predisponentes para infección.

INDICACIONES:

- Está indicado solamente antes del inicio de antibioticoterapia y/o post-tratamiento.
- Debe darse una indicación previa de la toma de la muestra y ser recolectada en un recipiente adecuado.
- En cuanto a conservación y transporte, deberán evitarse los tiempos prolongados debido al posible incremento del recuento bacteriano. Ideal procesar antes de 2 horas. Si esto no es posible, la muestra debe llegar en tubo con conservante especial para urocultivo que contenga ácido bórico.

ORIGEN DE LA MUESTRA: Las condiciones de la toma de la muestra se encuentran descritas en el instructivo de Toma de muestras.

- Micción espontánea
- Punción suprapúbica
- Cateterismo
- Sonda permanente
- Nefrostomía
- Bolsa pediátrica (No más de 20 minutos de postura, de no conseguir la micción deberá hacerse recambio)

CRITERIOS DE RECHAZO:

- La muestra no cumple con el protocolo de toma de muestras
- Se excedió el tiempo de toma de muestra sin conservación de la misma
- El recipiente de recolección no sea adecuado
- Los datos del paciente están incompletos

GRAM DE ORINA SIN CENTRIFUGAR:

La tinción de Gram de la orina sin centrifugar suministra información inmediata sobre la naturaleza de la infección y consecuentemente sirve de guía al clínico a la hora de seleccionar el tratamiento empírico. Sin embargo, esta importante ventaja va acompañada de inconvenientes, principalmente su baja sensibilidad para concentraciones por debajo de 10^5 ufc/mL, que la invalida en el diagnóstico de la IU no complicada donde recuentos entre 10^2 y 10^4 ufc/mL pueden ser frecuentes y la circunscribe casi exclusivamente a pacientes con sospecha de pielonefritis aguda donde es muy importante el conocimiento de la naturaleza del microorganismo infectante y cabe esperar concentraciones bacterianas altas. Técnicamente, la tinción de Gram es un método simple, un volumen de entre 0,01 y 0,05 mL se extiende en un portaobjetos de vidrio, se seca al aire, se tiñe y se examina mediante objetivo de inmersión (x1000). Si se observan al menos una bacteria por campo en la preparación, su concentración en orina debe ser de entre 10^4 y 10^5 ufc/mL. La observación de al menos 1 bacteria en el total de campos se considera un resultado positivo.

Para reportar el resultado se debe anotar:

- No se observan bacterias
- En caso de observar bacterias informar cuantas bacterias se observan por campo microscópico. Ejemplo: Bacilos Gram negativos: 3-5 x campo

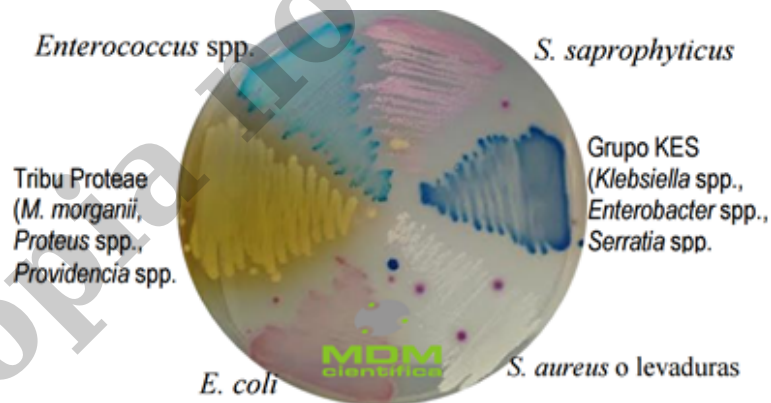
Almacenamiento y posterior descarte de láminas de gram:

Es importante tener en cuenta que se deberán guardar las láminas de gram ya leídas únicamente durante el mes en curso y el mes inmediatamente anterior. De meses anteriores a los que se deben guardar, se descartarán en recipiente plástico de paredes rígidas (guardian).

EMPLEO DE LA TECNICA DE SIEMBRA USANDO EL METODO DE KASS



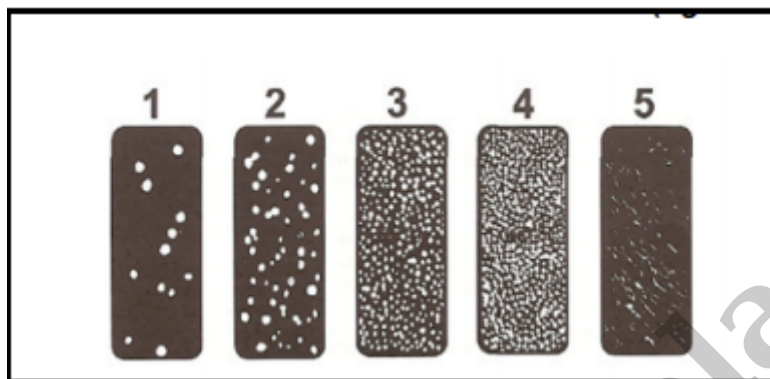
1. Con el asa estéril calibrada de 10 ul, sembrar en árbol sobre agar Sangre y agar Mac Conkey o sobre Cromoagar.
2. Incubar los agares a 37°C y efectuar su lectura a las 24 horas cumplidas.
3. Debido a que se pueden obtener microorganismos de lento crecimiento, se deben incubar las cajas hasta por 48 horas.
4. Para realizar el recuento de colonias, al sembrar con asa de 10 ul, cada colonia equivale a 100 UFC
5. En caso de utilizar agar cromogénico, se debe tener en cuenta el color obtenido de la colonia, ya que nos sirve de orientación para la identificación final.



EMPLEO DE UROTUBO:

El urocultivo realizado por urotubo es un procedimiento de microcultivo diseñado según las recomendaciones de Kass para confirmar en forma rápida y sencilla un proceso de infección urinaria. El sistema de microcultivo consta de una paleta plástica estéril de 2 caras cubiertas cada una de ellas con un medio de cultivo diferente: Primera cara con agar Cled, la segunda cara con agar MacConkey. La paleta viene, en su respectivo tubo y se cierra herméticamente. El agar MacConkey, permite el crecimiento de los microorganismos de la familia Enterobacteriaceae tanto lactosa + (colonias rosadas), como lactosa - (colonias translúcidas), dentro de los cuales se

encuentran los agentes etiológicos más comunes de la infección urinaria. El agar Cled, medio sobre el cual crecen todos los posibles microorganismos viables que puedan encontrarse en la orina en estudio y que permitirá establecer el recuento de microorganismos presentes por ml de orina (UFC/ml orina). El recuento de UFC ayuda a determinar, bajo ciertas condiciones, si los microorganismos presentes son o no responsables del cuadro clínico. La escala de valores puede verse a continuación:



INTERPRETACIÓN DE RECuento DE UFC:

Nº 1: 100 - 1.000 UFC/ml: No tiene significación clínica excepto en muestras tomadas por punción suprapúbica.

Nº 2: 1.000 - 10.000 UFC/ml: Si el cultivo es mixto en pacientes femeninas presunta contaminación vaginal.

Nº 3: 10.000 - 60.000 UFC/ml: Si el crecimiento es mixto y el paciente no presenta sintomatología el urocultivo es dudoso y debe repetirse el estudio en una nueva muestra.

Nº 4: 100.000 ó mas UFC/ml: Infección urinaria

Nº 5: 30.000 ó más UFC/ml, Si el crecimiento es monomicrobiano y el paciente presenta sintomatología clínica debe tomarse en consideración este recuento.

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA:

1. Agitar la orina para permitir una suspensión uniforme de los microorganismos que puedan estar presentes.
2. Tomar cuidadosamente un tubo de Urobacter y destapar girando la tapa con el índice y pulgar derechos, sacar en esta forma la paleta adherida a la tapa.
3. Introducir rápidamente la paleta en la orina, permitiendo una inmersión completa de ésta. Dejar que el exceso de orina caiga al recipiente que contiene la muestra.
4. Colocar inmediatamente la paleta en su recipiente estéril, cerrar herméticamente.
5. Identificar la muestra correctamente e incubar a 37°C por 18-24 horas.
6. Concluido el periodo de incubación, remover la paleta y revisar cuidadosamente el crecimiento obtenido interpretando los resultados según el número de UFC de la gráfica anterior.
7. En ocasiones la muestra de orina puede ser muy pequeña como para permitir la total inmersión de la paleta, como puede ocurrir con muestras de niños, en tales casos se puede tomar la orina con una pipeta estéril dejándola caer sobre cada una de las superficies del medio.

LECTURA Y REPORTE DEL CULTIVO:

- Negativo: Negativo a las 48 horas. No se observa crecimiento o se observa crecimiento no significativo.
- Positivo: Informar el recuento de colonias obtenido (ufc/ml) del (los) microorganismo(s) aislado(s), con su respectivo antibiograma. hay que tener en cuenta tanto la sintomatología,

como el tipo de muestra tomada para poder interpretar el cultivo

Recuento	Dato clínico	Muestra	Conducta
> 10 ⁴ ufc/ml, 1 o 2 probables patógenos	Sintomático	Chorro medio, sonda vesical	Identificación Antibiograma
> 10 ³ ufc/ml 1 probable patógeno	Sintomático Sexo masculino	Chorro medio, sonda vesical	Identificación Antibiograma
Tres o más organismos		Chorro medio, sonda vesical	Ninguno, repetir
> 10 ² ufc/ml probable patógeno (1 o más gérmenes)		Punción supra-púbica, nefrostomía, cistoscopia	Identificación Antibiograma

Tabla adaptada de: Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology

- Luego de realizar el recuento, se procede a realizar las pruebas de identificación y susceptibilidad antibiótica del microorganismo.
- No se deben procesar urocultivos en los que se observe crecimiento de más de 2 microorganismos, ya que es sugestivo de contaminación en la toma de la muestra. Se debe validar con nota: "Múltiples morfotipos bacterianos presentes. Probable contaminación. Si está indicado, repetir siguiendo estrictamente las recomendaciones de higiene y de obtención de la muestra".

HEMOCULTIVO ADULTO Y PEDIATRICO

La detección de la bacteriemia y fungemia constituye una de las prioridades en microbiología clínica al estar asociada a altos porcentajes de mortalidad con valores que oscilan entre 10-30%. Estas se producen cuando los microorganismos invaden el torrente sanguíneo y se multiplican superando la capacidad de retención y eliminación del sistema reticuloendotelial del organismo afectado. El origen de la infección puede ser intra vascular como es el caso de endocarditis e infecciones asociadas a catéteres, puede ser de origen extra vascular al existir infecciones en diferentes localizaciones sistémicas y pasar al torrente sanguíneo a través de capilares sanguíneos y/o vasos linfáticos. La gran mayoría de microorganismos pueden invadir el torrente sanguíneo, sin embargo son los cocos gram positivos los más frecuentes y hasta en un 25% de los casos se desconoce el foco originario. El inóculo bacteriano puede oscilar entre 10 y 10000 UFC/ml y en un 20% este inóculo puede ser inferior.

La definición de sepsis se ha determinado como la presencia de una disfunción orgánica que amenaza la vida de una persona causada por una respuesta no regulada del individuo a una infección. Existen algunos criterios conocidos como el qSOFA score que permiten la evaluación de un paciente para determinar fallas sistémicas lo que lleva a pensar en una sepsis

Las indicaciones clínicas para la toma de hemocultivos incluyen varios signos y síntomas entre los que se destacan fiebre o hipotermia (neonatos y ancianos), escalofríos, leucocitosis, trombocitopenia (no asociada a procesos hematológicos), shock, compromiso hemodinámico, fiebre de origen desconocido, entre otros. La incidencia de bacteriemias en pacientes hospitalizados varía entre 5-30 por 1000 pacientes. Siempre que se sospeche bacteriemia asociada a catéter se debe enviar muestras de hemocultivos a partir del catéter (un set) junto con una muestra periférica (un set) con un tiempo de intervalo no mayor a 5 minutos y el envío del dispositivo.

Otra forma de clasificar los pacientes a los cuales se les debe tomar hemocultivos es:

Paciente con signos de sepsis
Pacientes con neumonía severa
Pacientes con fiebre (hipo e hipertermia) sin foco conocido
Pacientes con sospecha de endocarditis
Niños menores de 90% con fiebre
Pacientes con fiebre y sospecha de osteomielitis
Pacientes con fiebre e inmunodeficiencias

Entre las infecciones digestivas, intrabdominales, respiratorias, genitourinarias y asociadas a dispositivos se reúnen las causas de bacteriemias. Pero un 27% es de foco desconocido y por esto es importante aislar el agente causal lo más rápido posible

Una adecuada toma de muestra aumenta las probabilidades de obtener resultados positivos en bacteriemias verdaderas y una gran variedad de estudios han demostrado la alta utilidad de tomar la muestra lo más cerca posible al pico febril y en lo posible antes del inicio de cualquier manejo antibiótico. Sin embargo con las últimas tecnologías de los medios de cultivo, cualquier momento es ideal para realizar la toma de los hemocultivos, si se cumple con los requisitos en cantidad y volumen. La mayoría de casos presentan una carga bacteriana que oscila entre 10 y 10000 UFC/ml sin embargo entre un 20 y un 50% de los casos de bacteriemias la carga bacteriana puede ser menor a 1 ufc/ml por lo que el volumen es muy importante (en 18% es tan solo 0.1 ufc/ml, es decir que en 10 ml apenas se cuenta con 1 ufc/ml)

Tomar el cultivo de manera oportuna permite la administración de antibióticos empíricos iniciales que incluso puede ser inadecuado en hasta un 30% (1 de cada 3-4 pacientes) que reciben una terapia inicial inadecuada que puede ser corregida con los reportes preliminares y finales del cultivo.

Una terapia correcta antes y después del resultado supone apenas un porcentaje de mortalidad de un 10%, porcentaje que aumenta 13% sin la terapia inicial fue inadecuada; si la terapia es corregida solo hasta conocer el antibiograma del microorganismo y no con la identificación el porcentaje de mortalidad puede aumentar a 22% y si la misma nunca es correctamente administrada la mortalidad puede llegar a un 33%

La muestra puede obtenerse de una vena o una arteria ya que no se han encontrado ventajas de una sobre la otra, pero cada muestra debe obtenerse de distintas localizaciones anatómicas.

1. Toma de la muestra:
2. Realizar lavado de manos
3. Mantener un área técnica libre de contaminantes
4. Usar mascarilla facial y suministrar una al paciente para evitar contaminación
5. Usar todas las medidas de protección personal (no es recomendable usar guantes que contengan talcos)
6. Limpiar la zona de la toma de muestra con alcohol isopropílico o etílico al 70% por 30 segundos
7. Aplicar solución yodada (o clorhexidina) durante 30 segundos a un minuto cubriendo un área de 2-4 cm de diámetro
8. Dejar secar la solución y evitar hablar sobre la zona de toma de muestra
 - a. En pacientes alérgicos a soluciones yodadas se debe realizar dos limpiezas con alcohol
9. Escoger las botellas que se van a tomar de acuerdo a las necesidades (gérmenes aerobios, anaerobios, micobacterias y pediátrica si aplica)
10. Retirar la cubierta de la tapa de la botella y limpiar el tapón con un antiséptico (isopropanol por ej.) por ejemplo y dejar secar
11. Obtener la muestra de sangre con jeringa para garantizar el volumen necesario (si la muestra a tomar es de catéter se debe hacer desinfección del trayecto y sitio de conexión con un

- antiséptico. Los primeros 10 ml de sangre son para limpiar la vía y se deben descartar y con otra jeringa obtener la sangre que se va a inocular en las botellas)
12. No poner torundas de algodón ni otro material no estéril sobre la vena al retirar la aguja para evitar contaminar la muestra
 13. Sin cambiar de aguja inocular inmediatamente las botellas de hemocultivos; si se tienen botellas para anaerobios estas deben ser las primeras en inocular seguidas de las de gérmenes aerobios
 14. El volumen de sangre por botella es de 10 ml en adultos, 4 ml para niños mayores de 3 años y entre 0.5 ml y 1 ml para menores de 3 años
 15. Luego de obtener la muestra en la botella, no se debe pegar nada sobre el tapón de la misma para evitar contaminaciones.
 16. Luego de colectada la muestra, ingresar la botella en el equipo de hemocultivos lo más pronto posible. Si la muestra es tomada en un lugar lejano del lugar de procesamiento, proteger la botella de la luz y enviar a temperatura ambiente lo antes posible al laboratorio. Ingresar al equipo antes de 24 horas.
 17. Las botellas no pueden ser guardadas en nevera, no se pueden transportar a temperaturas mayores a 25°C y deben ser resguardados de la luz.
 18. La incubación en el equipo automatizado se realiza por 5 días.
 19. En caso de tener que realizar la técnica manual, debe hacerse un repique a las 24 horas, y a partir de ese momento deberá supervisarse el cultivo constantemente, atentos a cualquier cambio, y repetir el proceso de repique al tercer y quinto día. La incubación deberá realizarse a 37°C.
 20. Los Criterios de interpretación deberán ser: por cuadro clínico, agente aislado, número de hemocultivos realizados, tiempos de positividad, condición clínica del paciente, tratamientos y comunicación directa con el médico.
 21. Debe informarse el tiempo de positividad del cultivo en el informe preliminar y/o final.

El número de extracciones recomendadas en un estudio de bacteriemias en un adulto es **2-3 sets de hemocultivos** (la recomendación de nuestro Instituto Nacional de Salud es de tomar **2 kit de hemocultivos**). Cada extracción es recomendable realizarla en distintos sitios anatómicos y se debe inocular en los posible un kit de hemocultivos por extracción (una botella anaerobia y una aerobia), de esta manera es posible detectar con dos kits hasta un 90% y con 3 kits más del 95% de las bacteriemias. Un número mayor de extracciones no es aconsejable y no brinda ventajas diagnósticas a excepción de los casos de interpretación de presencia de estafilococos coagulasa negativo y resultados negativos con sospecha de microorganismos de difícil crecimiento. En neonatos solo es recomendable obtener muestra para una botella ya que está demostrado que un hemocultivo inoculado con el volumen adecuado es más relevante que varios con un volumen no adecuado. Las botellas de hemocultivos anaerobios proveen a los microorganismos un microambiente metabólico distinto al aerobio estricto lo que permite una mejor recuperación de muchos de estos.

Una disminución en el volumen de sangre se ha asociado con una disminución de positividad del 3-5% por mililitro.

No existen recomendaciones universales de los intervalos de extracción pero se recomienda un tiempo de 30 minutos, sin embargo según la ocasión se pueden tomar de manera simultánea. Se aconseja tomar hemocultivos entre 48 y 72 horas después de una bacteriemia diagnosticada con el fin de controlar el tratamiento y evidenciar si persiste el microorganismo en la sangre lo que supondría una bacteriemia complicada.

La conservación de las botellas de hemocultivos puede ser a temperatura ambiente durante periodos relativamente cortos. Si el tiempo que transcurrirá hasta el ingreso en el sistema automatizado es mayor deben ser mantenidas en lo posible de 35-37°C. Si el tiempo supera las 18 horas es recomendable hacer un sub cultivo ciego de las botellas antes de ingresarlas al sistema automatizado para evitar falsos negativos generados por la curva de crecimiento de los

microorganismos.

Por todo lo mencionado es fundamental poder cumplir con un estricto proceso en cada paso de un hemocultivo desde la importancia de la solicitud de los mismos, el número de botellas, el volumen adecuado, el transporte eficiente y el procesamiento, hasta la emisión de resultados preliminares y finales.

EN SU ORDEN CON MAS FRECUENCIA EN BACTERIEMIAS

COCOS GRAM POSITIVOS	BACILOS GRAM NEGATIVOS	LEVADURAS
STAPHYLOCOCOS	ENTEROBACTERIAS	CANDIDA ALBICANS
STREPTOCOCOS		
ENTEROCOCOS		

En los últimos tiempos se ha observado un aumento en aislamientos de otras especies de *Candida* como *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. En niños la etiología se ha venido dilucidando apareciendo con mayor frecuencias agentes como *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, entre otros. Aunque el hemocultivo posee baja sensibilidad diagnóstica para algunos de estos microorganismos (menos del 20%) el aislamiento de estos permite la continuidad del proceso diagnóstico y la realización perfiles de sensibilidad.

En las bacteriemias asociadas a catéter son los Estafilococos Coagulasa Negativo los más frecuentes, seguidos de *S. aureus*, Enterococos y enterobacterias.

Se consideran contaminantes microorganismos habitualmente comensales de la piel que sean aislado de un solo hemocultivos como *Aerococcus* sp, *Micrococcus* sp, *Bacillus* sp, Estafilococos coagulasa negativo, Estreptococos alfa hemolíticos del grupo viridans, entre otros.

REPORTE

HEMOCULTIVO NEGATIVO:

Las botellas que han cumplido su período de incubación y en ausencia de crecimiento bacteriano el equipo lo informa como negativo. Reportar el resultado negativo a los 5 días de incubación para gérmenes aerobios/anaerobios (cuando se sospeche de estos), 14 días para búsqueda de hongos filamentosos y 47 días para micobacterias. Tener en cuenta que en caso de requerir hemocultivo para micobacterias, la botella es especial y no sirven las botellas para gérmenes comunes.

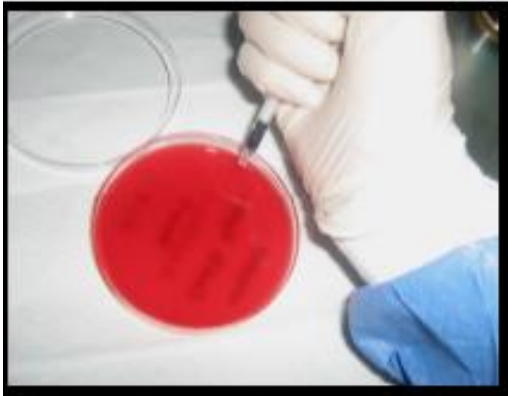
Las botellas tomadas para líquidos peritoneales se informan negativas hasta los 7 días de incubación.

HEMOCULTIVO POSITIVO:

Cuando el equipo nos da el aviso de hemocultivo positivo, se debe llevar la botella a la cámara de bioseguridad, limpiar la boquilla de la botella con alcohol y algodón, puncionar la botella con jeringa de insulina, extraer la muestra y realizar lámina para coloración de gram y cultivo por agotamiento en agar sangre, MacConkey y chocolate. Si en el gram se observan levaduras, se debe también hacer siembra en Sabouraud. Incubar los medios a 37°C por 24 horas y si hay crecimiento iniciar el proceso de identificación y antibiograma según el germen aislado; en caso de no haber crecimiento, reincubar los medios y repicar nuevamente la botella. Al tener la identificación y antibiograma se informa positivo para el o los microorganismos aislados y el respectivo antibiograma.

Tener en cuenta que al incubar y procesar botellas de aerobios y anaerobios se debe hacer un

análisis del crecimiento en las mismas ya que un crecimiento en ambos tipo de botella se interpreta como la obtención de un germen aerobio/anaerobio facultativo, el crecimiento solo en las botellas aerobias indica la presencia de un germen aerobio estricto, mientras que la positividad solo de las botellas anaerobias indicarían el crecimiento de un germen de difícil crecimiento o de un anaerobio, en este último escenario se deben realizar los subcultivos y en caso de no obtener crecimiento, realizar proceso para identificación de anaerobios (remisión).



CULTIVO DE PUNTA DE CATETER

FUNDAMENTO:

Los catéteres se definen como todos los dispositivos intravenosos insertados percutáneamente, tanto por un acceso periférico (vena basilica o cefálica) como por uno central (vena subclavia, yugular interna, axilar o femoral) y de corta duración, los cuales se fijan en menos de 30 días. Las infecciones relacionadas con catéteres se caracterizan por flebitis (vena periférica), induración o eritema con calor y dolor en el punto de entrada y/o en el trayecto del catéter, signos locales de infección en el punto de entrada del catéter; enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento.

PROCEDIMIENTO:

Es importante tener en cuenta que para efectuar una adecuada correlación del estado clínico del paciente, al laboratorio de microbiología deberá llegar el fragmento de punta de catéter junto con dos hemocultivos cada uno debidamente rotulado indicando los datos del paciente y si fue tomado a nivel periférico o central.

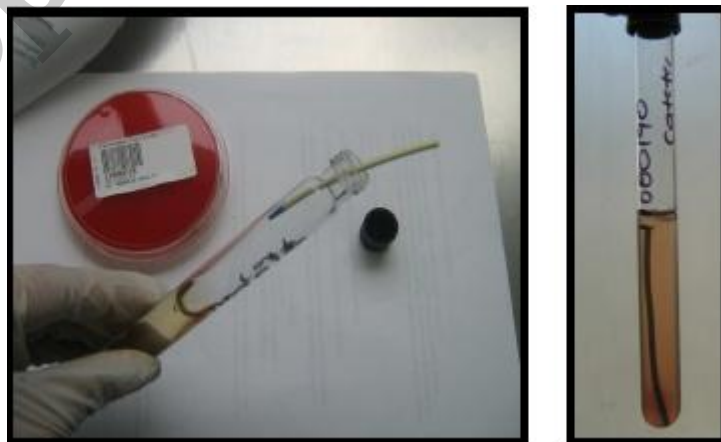


1. Con pinza estéril y siguiendo las indicaciones de la técnica de Maki, retirar el catéter del tubo y colocar sobre la superficie de un Agar sangre, haciendo rotaciones del mismo en 2 o 3 direcciones sobre el agar.



2. Depositar nuevamente el catéter en el tubo que venía y agregar BHI hasta que lo cubra, incubar el Agar sangre y el caldo BHI a 37 °C.

3. La primera lectura se hace a las 24 horas si se obtiene crecimiento se informa recuento



- Si el recuento es Mayor a 15 ufc: se procede a montaje de identificación y pruebas de susceptibilidad.
- Si el recuento es menor a 15 ufc: se interpreta como colonización y se reportara como negativo.

- Si no se obtiene crecimiento a las 24 horas se reincubará hasta las 72 horas y se reportará negativo.

REPORTE:

Negativo: Negativo a las 72 horas de incubación.

Positivo: Se obtuvo crecimiento de 15 UFC o > 15 UFC del (los) microorganismo(s) aislado(s), con su respectivo antibiograma.

SECRECIÓN OROTRAQUEAL, TRAQUEOBRONQUIAL, ENDOTRAQUEAL Y LAVADO BRONCOALVEOLAR

FUNDAMENTO

Las secreciones orotraqueales, traqueobronquiales y endotraqueales se utilizan fundamentalmente para valorar la colonización e infección del tracto respiratorio en el paciente ventilado, y tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la microbiota orofaríngea.

En el caso de los lavados broncoalveolares podemos decir en términos generales que las muestras obtenidas por fibrobroncoscopía son muestras contaminadas en menor grado con microbiota orofaríngea.

El propósito del examen es la determinación cuantitativa de los patógenos pulmonares mediante la utilización de diluciones de la muestra.

PROCEDIMIENTO

En la secreción orotraqueal, traqueobronquial o endotraqueal, adicionar solución fluidificadora (Fluimucil) en cantidad igual a la cantidad de muestra utilizando una jeringa estéril y mezclar. Realizar de la muestra directa lámina para coloración de gram.



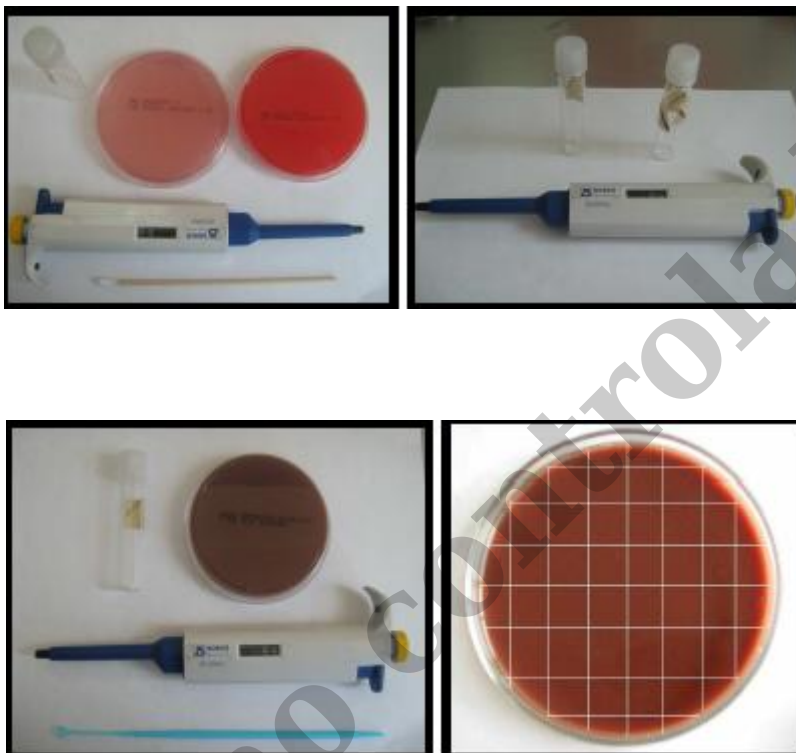
Incubar durante 30 minutos a 37°C en incubadora sin CO₂ y Mezclar hasta homogenización completa. El Lavado broncoalveolar no requiere fluidificación.

Se deben realizar diluciones seriadas de la siguiente manera:

- Transferir 100 µl de la muestra a placas de agar sangre, chocolate y Mac Conkey rotuladas "10¹". Cada colonia de esta placa equivale a 10 UFC. (Realizar únicamente este paso para los lavados broncoalveolares)
- Colocar 5 ml de suero fisiológico estéril en un tubo estéril. Transferir a este tubo 50 µl de la

muestra. Transferir 100 μl de esta dilución a las placas rotulada "10³". Cada colonia de esta placa equivale a 10³ UFC/ml.

- Colocar 5 ml de suero fisiológico estéril en un tubo estéril y transferir a este tubo 50 μl de la dilución realizada anteriormente. Transferir 100 μl de esta dilución a las placas rotulada "10⁵". Cada colonia de esta placa equivale a 10⁵ UFC/ml. Esparcir los inóculos sembrados con asa en rejilla. Incubar en CO₂ a 37°C durante 72 horas.



Cuantificar el desarrollo observado en los medios sembrados: contar las colonias y multiplicar por el factor de dilución para determinar el número de bacterias presentes en 1 ml de material.

El cultivo cuantitativo de aspiración endotraqueal constituye un método diagnóstico confiable para neumonía asociada a ventilación mecánica cuando se obtienen recuentos mayores a 10⁵ · 10⁶ UFC/ml.

Para los lavados broncoalveolares, identificar los microorganismos presentes en recuento significativo ($\geq 10^4$ UFC/ml). Se considera que un recuento de colonias $\geq 10^4$ UFC/ml es consistente con la etiología bacteriana de la neumonía, mientras que recuentos inferiores indican probablemente contaminación con la microbiota orofaríngea. Tener en cuenta que un crecimiento de más de 10 colonias en la placa rotulada como 10³ corresponde por cálculo a un recuento $\geq 10^4$

REPORTE:

Negativo: Negativo para gérmenes patógenos a las 72 horas de incubación.

Positivo: Informar el recuento de unidades formadoras de colonias obtenido del (los) microorganismo(s) aislado(s) y su respectivo antibiograma.

Para el reporte, es importante tener en cuenta el siguiente cuadro:

Microorganismo	Recuento semicuantitativo	Recuento cuantitativo (LBA)	Recomendación
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Cualquiera	Cualquiera	Identificación y antibiograma
<i>S. pneumoniae</i>	Bajo, mezclado con microbiota habitual*	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado - alto mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mayor o igual a microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
<i>Haemophilus influenzae</i>	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
Streptococcus beta hemolíticos de grupos B, C y G	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
Enterobacterias (1 o 2 morfologías diferentes)	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
Bacilos gram negativos no fermentadores, como <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , etc.	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.

> 2 morfotipos de bacilos Gram negativos mezclado	≤ microbiota normal	<10 ³ UFC/ml	No estudiar, informar como microbiota Gram negativa mixta.
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	≥10 ³⁻⁴ UFC/ml	Solo estudiar si algún morfotipo predomina sobre el resto y alcanza el punto de corte establecido.
<i>Rhodococcus equi</i>	Cualquier desarrollo	Cualquier recuento	Identificar e informar
<i>Nocardia spp.</i> , <i>Streptomyces</i>	Cualquier desarrollo	Cualquier recuento	Identificar e informar
<i>Corynebacterium spp.</i>	≤ microbiota normal	<10 ³ UFC/ml	No estudiar
	Recuento moderado-alto, mayor que microbiota normal	≥10 ³⁻⁴ UFC/ml	Identificación y estudios de sensibilidad.

CULTIVO DE ESPUTO

FUNDAMENTO

Es un método fácil y rápido cuya utilidad o relación entre resultado obtenido y verdadera etiología depende en gran medida de su correcta obtención, control de calidad antes de iniciar su procesamiento, tipo de agente que se pretenda detectar y valoración adecuada del resultado. En las condiciones habituales de la clínica diaria, es difícil obtener una muestra representativa de la situación existente en el tracto respiratorio inferior debido a su mezcla con secreciones procedentes de todo el árbol traqueo-bronquial y con la microbiota de la orofaringe.

INDICACIONES

La expectoración se procesara para cultivo cuando al menos tenga 25 leucocitos polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo (100x).

Idealmente el procesamiento de las muestras debe realizarse en la cámara de bioseguridad lo antes posible, dado el efecto adverso que tienen los retrasos en la recuperación de ciertos patógenos.

PROCEDIMIENTO

Seleccionar las áreas más purulentas de la muestra para su procesamiento. Realizar al menos 2 frotis para tinción con Gram. Idealmente la observación del examen directo con Gram debería realizarse antes de la siembra de la muestra dado que nos permite valorar la calidad de la misma, evitando así la siembra de muestras no representativas del tracto respiratorio inferior (saliva).

Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey, continuando con una siembra por agotamiento en estos. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate por 72 horas, con lectura diaria de los cultivos.

EXAMEN DE GRAM

Se utiliza para valorar de la calidad de las muestras de expectoración. Es importante asegurar la buena calidad y representatividad de las muestras de expectoración, dado que el seguimiento de muestras no representativas del tracto respiratorio inferior (saliva) representa un desperdicio de los recursos del laboratorio de microbiología y puede llevar a errores diagnósticos y terapéuticos.

La presencia de células epiteliales planas es un parámetro que indica la contaminación de la muestra con secreciones orofaríngeas, mientras que la presencia de leucocitos polimorfonucleares indica la presencia de inflamación activa.

Luego de colorear las láminas, se debe examinar a bajo aumento (10x) 20-40 campos del frotis de la expectoración y valorar la relación entre células epiteliales planas (CEP) y leucocitos polimorfonucleares (PMN). Existen varios criterios que pueden aplicarse para concluir sobre la calidad de la muestra, siendo uno de los más utilizados para la aceptabilidad de la muestra la observación de < 10 Células epiteliales y > 25 leucocitos PMN por campo de bajo aumento. En caso de que el frotis sugiera que la muestra es de buena calidad (cumple con criterio de aceptabilidad) se pasa a su observación a mayor aumento (100x) con aceite de inmersión, valorando la presencia de algún morfotipo bacteriano predominante, lo que ayudará a la posterior valoración del cultivo.

Almacenamiento y posterior descarte de láminas de gram:

Es importante tener en cuenta que se deberán guardar las láminas de gram ya leídas únicamente durante el mes en curso y el mes inmediatamente anterior. De meses anteriores a los que se deben guardar, se descartarán en recipiente plástico de paredes rígidas (guardian).

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE CULTIVOS

Realizar una primer lectura a las 24 horas de incubación, pero las placas se incuban 48 horas más aunque se observe crecimiento inicial y se estudie, con el fin de detectar patógenos que no estuvieran presentes inicialmente o pudieran pasar desapercibidos. Identificar y realizar estudio de sensibilidad de los microorganismos que muestran un desarrollo significativo y que presentan un morfotipo compatible con algún patógeno primario potencial.

Se define como desarrollo significativo un crecimiento en por lo menos 2 cuadrantes de la placa, que supera la microbiota normal de fondo. También se considera como significativo un menor recuento, si se trata de un patógeno primario que crece puro o prácticamente puro (otra microbiota normal es mínima o está ausente en la placa) y es consistente con el morfotipo bacteriano predominante observado en el Gram en asociación con los polimorfonucleares.

INFORME

Cuando la muestra no cumple con los criterios de aceptabilidad para cultivo de acuerdo a lo observado en el gram, debe reportarse: "Muestra no representativa del tracto respiratorio inferior; la microscopía revela presencia de más de 10 células epiteliales planas por campo de bajo aumento".

Cultivos negativos: Informar sin desarrollo de microorganismo a las 72 horas de incubación. Esto puede deberse a inhibición de la microbiota por tratamiento antibiótico previo.

Cultivos positivos: Cuando solo se observa microbiota orofaríngea y ausencia de patógenos en desarrollo significativo, se debe informar: "Crecimiento de microbiota normal". Cuando se encuentra desarrollo significativo de algún patógeno potencial, informar el crecimiento obtenido con identificación y resultado de estudio de susceptibilidad antibiótica.

CULTIVO PARA BORDETELLA

FUNDAMENTO: *Bordetella pertussis*, bacilo pleomorfo gram negativo, capsulado, inmóvil, que tiene al ser humano como único reservorio. *B. pertussis* expresa la toxina causante de la tos ferina, enfermedad endémica a nivel mundial. Afecta principalmente menores de 5 años, siendo los lactantes los que presentan mayor tasa de letalidad. Se transmite por contacto directo a través de secreciones de personas infectadas.

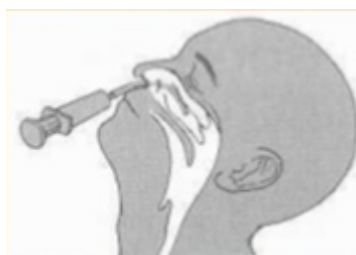
El aislamiento de *B. pertussis* en cultivo es definitivo para el diagnóstico, y aunque poco sensible (50%) sigue siendo el método diagnóstico de referencia, ya que la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aunque permite un diagnóstico rápido y mejora la sensibilidad del cultivo, no se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios clínicos. La baja sensibilidad del cultivo depende de factores propios del paciente (tratamiento antibiótico previo, duración de los síntomas, edad y vacunación), de las condiciones del transporte de la muestra y del tipo y calidad de los medios empleados.

El medio de cultivo Regan lowe ha demostrado su utilidad como un medio de enriquecimiento para el aislamiento selectivo de *B. pertussis* y *B. parapertussis*. Se compone de agar de carbón vegetal como medio base suplementado con cefalexina (RL + C) para inhibir bacterias autóctonas de la nasofaringe, y la sangre de caballo desfibrinada para apoyar el crecimiento de las especies de *Bordetella*. El uso del medio sin cefalexina (RL-C) en paralelo con Regan Lowe con cefalexina (RL + C) es recomendado, ya que algunas cepas (<10%) de *B. pertussis* no crecen en RL + C. *B. holmesii* también es inhibida por la cefalexina. RL-C es utilizado para subcultivos para obtener una mayor cantidad de crecimiento para pruebas bioquímicas, pruebas de aglutinación y pruebas de inmunofluorescencia.

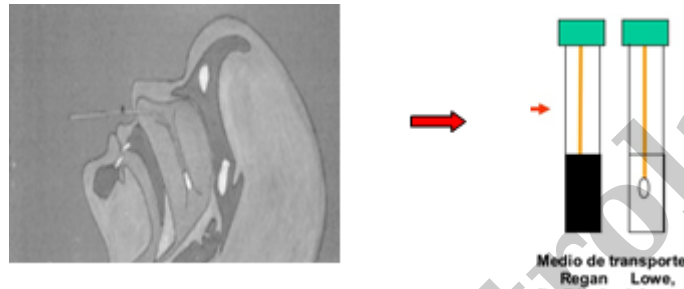
TOMA DE MUESTRA:

ASPIRADO NASOFARINGEO

Tomar una jeringa con 1 ml de solución salina estéril y un catéter blando. El paciente debe estar acostado con el cuello extendido durante la recolección. Primero se inserta suavemente el catéter por una fosa nasal hasta que alcance la nasofaringe, dispensar la solución salina y luego aspirar rápidamente. Tapar la jeringa o depositar el aspirado en un tubo estéril y enviar a 4°C en el menor tiempo posible.



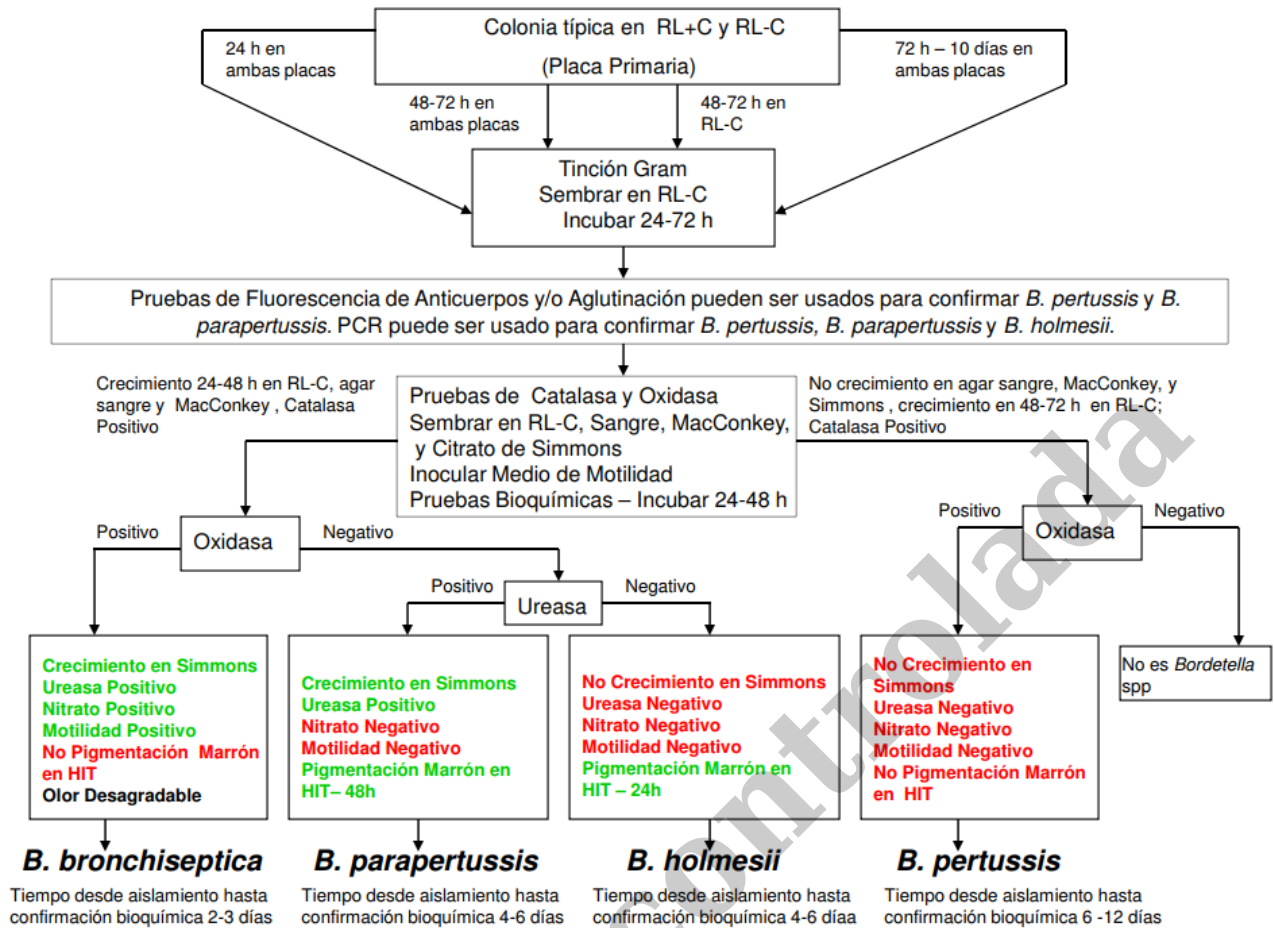
HISOPADO NASOFARINGEO: La muestra ideal es hisopado nasofaríngeo tomado con hisopo flexible de dacron, rayon o nylon. No se debe utilizar hisopo de algodón o de alginato de calcio. Primero se inserta el hisopo suavemente en la fosa nasal hasta llegar al fondo de la nariz, y se deja en posición durante 15 a 30 segundos. La muestra debe ser inoculada inmediatamente en medio de transporte Regan Lowe y conservar a temperatura ambiente o a 4°C si la muestra es procesada en más de 24 horas.



PROCESAMIENTO

1. Inmediatamente llega el medio de transporte o el aspirado nasofaríngeo se debe procesar en cabina de bioseguridad. Se siembra por agotamiento en medio Regan Lowe con y sin cefalexina, se dejan en incubación de 35 a 37°C durante 12 días en cámara húmeda sin CO₂.
1. Las colonias características de Bordetella son pequeñas, blancas brillantes, convexas, perladas. Son visibles luego de 48 a 72 horas de incubación. Ante cualquier crecimiento sugestivo de Bordetella se replica en RL - C, se realizan las pruebas de confirmación (crecimiento en MacConkey, catalasa y oxidasa) y se envía la cepa al laboratorio de salud pública para la correcta identificación.





PRUEBAS BIOQUÍMICAS CONFIRMATORIAS

PRUEBA	<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
CATALASA	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
UREASA	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
OXIDASA	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
NITRATO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
CITRATO DE SIMONS	SIN CRECIMIENTO	CRECIMIENTO	CRECIMIENTO

LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO, ARTICULAR, AMINIÓTICO, PLEURAL Y PERICARDICO

FUNDAMENTO:

Los líquidos ascítico, pleural y pericárdico constituyen los líquidos serosos. Son ultrafiltrados

plasmáticos que facilitan el movimiento de las vísceras. Su composición y volumen se altera por procesos infecciosos, traumáticos o inflamatorios. El Líquido amniótico es un fluido acuoso que rodea y amortigua al feto en desarrollo en el interior del saco amniótico. Permite al feto moverse con libertad dentro de la pared del útero sin que las paredes de éste se ajusten demasiado a su cuerpo. También le proporciona sustentación hidráulica.

Por su parte, el LCR Es una solución compleja resultante de distintos procesos de transporte bidireccional entre el plasma y las células que revisten los plexos coroideos y las superficies ventriculares. Actúa como soporte físico y metabólico del sistema nervioso central (SNC), manteniendo constante la presión intracraneal. El análisis del LCR es fundamental para el diagnóstico de los procesos patológicos relacionados con el encéfalo, la médula y las meninges, así como con los procesos hemorrágicos producidos en las cavidades que lo contienen. Es claro y transparente como agua de roca. Como consecuencia de diversas patologías puede presentar otros aspectos: aparece turbio cuando el recuento de leucocitos es superior a 400/ μ L o se encuentra una proteinorraquia > 150 mg/dL, se asocia también con la presencia de bacterias y concentraciones elevadas de lípidos; hemorrágico, puede originarse en una hemorragia subaracnoidea o bien ocasionarse tras una punción traumática.

PROCEDIMIENTO

1. Alicuotar una parte del líquido en un tubo estéril y centrifugar 30 minutos a 3500 rpm, separar el sobrenadante. Guardar contramuestra
2. Con el sedimento hacer coloraciones de Gram (2 láminas). Describir las bacterias que se observen, tinta china (Para buscar levaduras encapsuladas) y extendido para BK según solicitud médica.
3. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey, continuando con una siembra por agotamiento en estos. Inocular igualmente BHI. Si se solicitó cultivo para Micobacterias y Hongos seguir el protocolo para cada cultivo y sembrar los medios del sedimento.
4. La lectura de los cultivos se realizaran a las 24, 48 y 72 horas. Determinar el crecimiento del agente predominante catalogándolo como Escaso (si solo hay crecimiento en el primer cuadrante del inoculo), Moderado (si hay crecimiento en 2 cuadrantes de la caja) o Abundante (crecimiento en tres o más cuadrantes de la caja).

REPORTE:

Negativo: Negativo a las 72 horas de incubación.

Positivo: Determinar el crecimiento del (los) microorganismo(s) aislado(s), con su respectivo antibiograma.

GRAM:

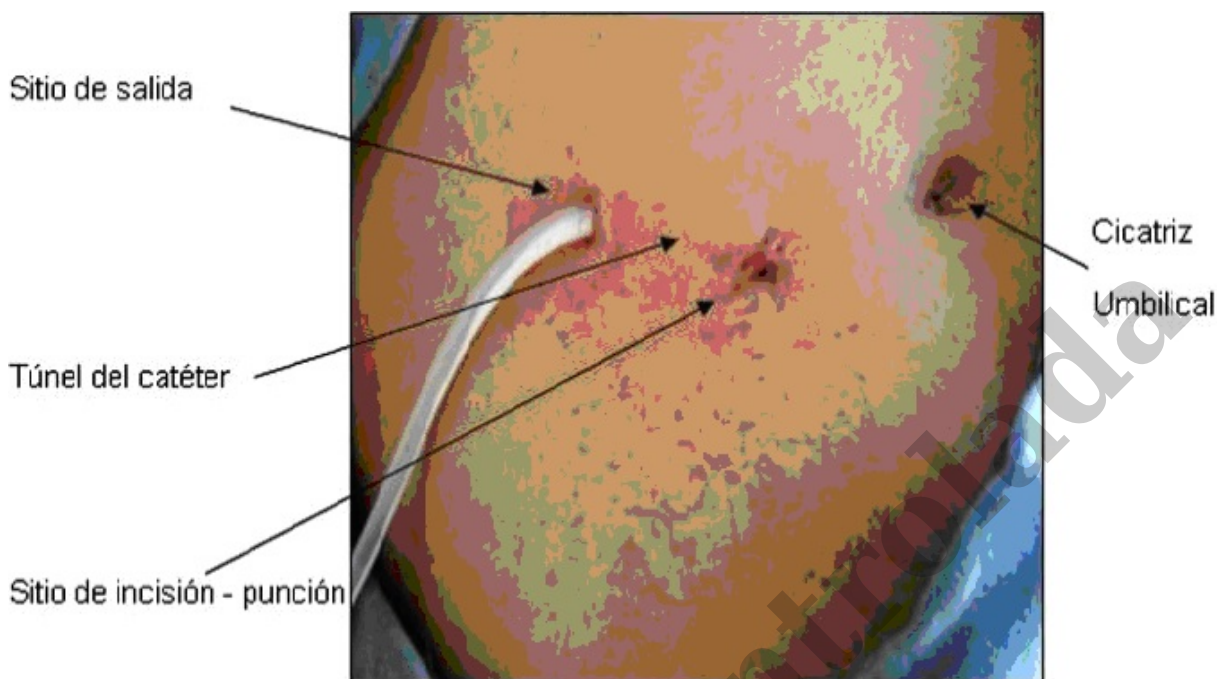
Negativo: Negativo para microorganismos en la muestra examinada.

Positivo: Informar la morfología que se observa por campo. La respuesta leucocitaria se informa en cantidad: Escasa, Moderada o Abundante.

SECRECIÓN DE ORIFICIO

El cultivo se realiza en los pacientes renales que presenten en su piel un dispositivo plástico

(Catéter). El orificio de inserción puede presentar inflamación, enrojecimiento, dolor y secreción. En ocasiones, la infección se propaga hacia adentro siguiendo el recorrido del tubo del catéter provocando una infección llamada tunelitis en la pared abdominal.



Esta muestra llega al laboratorio tomada en un aplicador y dentro de un medio de transporte. Debe remitirse igualmente un frotis en lámina de vidrio para la coloración de gram. En el laboratorio se procede a sembrar en agar sangre y agar MacConkey (en ese orden). Se llevan a incubar a 35°C - 37°C y son evaluadas hasta por 72 horas. Si se observa crecimiento bacteriano se procede a identificar el microorganismo pero si al cabo de este tiempo no se observa positividad se informa negativo a las 72 horas de incubación.

REPORTE:

Negativo: Negativo a las 72 horas de incubación.

Positivo: Se obtuvo crecimiento escaso, moderado o abundante del (los) microorganismo(s) aislado(s).

LIQUIDO PERITONEAL

Es un líquido extra corpóreo producto de una infusión a cavidad peritoneal. La colonización y posterior infección (peritonitis) de esta cavidad por diferentes microorganismos que pueden ingresar a través del catéter constituye una de las causas de complicaciones de pacientes que se encuentran en programas de diálisis renal peritoneal, generando un cambio en el aspecto del líquido de claro a turbio y produciendo en el paciente síntomas como fiebre y dolor abdominal. El correcto diagnóstico y manejo de estas infecciones puede llegar a convertirse en un punto decisivo en la intención de mantener y mejorar las condiciones de salud de estos pacientes y por lo tanto la correcta manipulación de esta muestra permite recuperar en gran medida el causante de estas infecciones y por consiguiente su correcta identificación y perfil de resistencia, lo que le permitiera a la unidad renal, dar el manejo adecuado y oportuno.

Las muestras de líquido de diálisis de deben enviar al laboratorio teniendo los cuidados respectivos

de una muestra estéril y por lo tanto deben estar completamente selladas y protegidas de cualquier fuente de contaminación. A la llegada del líquido a la sección de microbiología, este se debe alicuotar para obtener muestras suficientes para el cultivo y el recuento celular.

Procesamiento:

- Se debe realizar limpieza y desinfección del área de trabajo y de la cámara de bioseguridad antes del procesamiento. Igualmente se deben utilizar todos los implementos de protección personal nuevos.
- Mezclar cuidadosamente la bolsa con el líquido permitiendo así que se homogenice la muestra y que se resuspenda cualquier agregación celular incluyendo los microorganismos que puedan estar presentes.
- Con alcohol hacer decontaminación de la zona donde se obtendrán las alicuotas
- Con sistema al vacío (venoject) tomar ocho (8) tubos sin aditivo de 10 ml y dos (2) tubos sin aditivo tapa blanca de 6 ml, estos últimos para recuento celular los cuales se pasan al área de hematología (la entrega de la alicuota para recuento al área de hematología se debe registrar en el Control Muestras Inter Secciones ID-ADLAB-IN-26-F02 para garantizar la trazabilidad del proceso) y con los restantes servir en dos (2) tubos de 50 ml tapa azul cónicos (tubos plásticos nuevos). Uno de estos tubos se dispondrá directamente para el procesamiento del cultivo, mientras el adicional se conservará en refrigeración para su posible uso posterior en otras pruebas o el reproceso del mismo cultivo si es el caso.
- Centrifugar el tubo de 50 ml a 3000 gravedades por 15 minutos
- Descartar por decantación y resuspender el sedimento en aproximadamente 10 mililitros del solución salina estéril
- Realizar una siembra en botellas de hemocultivos pediátricas o de adulto con jeringa, agregando 10 ml del volumen en las botellas.
- Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey, continuando con una siembra por agotamiento en estos.
- Realizar lamina del sedimento para coloración de gram.
- Incubar las cajas de agar en ambiente de aerobiosis + CO₂ para permitir el crecimiento de microorganismos aerobios y algunos exigentes que requieren de este último para su desarrollo
- Incubar la botella de hemocultivo, según las indicaciones comerciales por 7 días.
- Realizar lectura del agar y de la botella de hemocultivo cada 24 horas y en caso de obtener crecimiento, realizar un repique en agares sangre, macconkey y chocolate mediante inóculo y agotamiento para luego realizar el respectivo proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad, además de la realización de una lamina a la que se le realizara coloración de gram.

REPROCESO

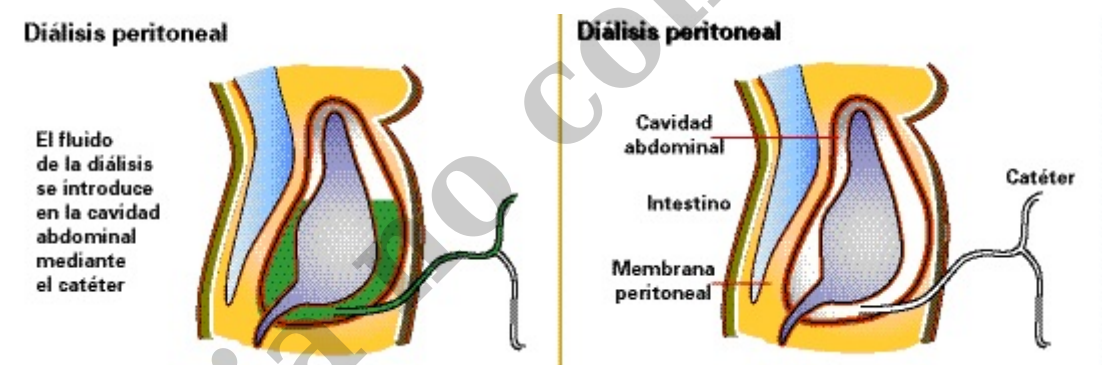
En algunas ocasiones el procesamiento de esta muestra no permite el aislamiento de un probable patógeno, sin embargo un mayor esfuerzo en recuperar microorganismos puede ser clave para este objetivo y es por esto que si el cultivo lleva en incubación 4 días y el recuento celular sea sugestivo de una infección (Recuento de Leucocitos $>100/uL$ y/o una fórmula diferencial que evidencia un valor relativo $>50\%$ de Neutrófilos) se debe reprocessar la muestra esperando aislar el agente causal.

- Tomar una de las alícuotas guardadas del líquido y realizar el mismo proceso descrito anteriormente.

RESULTADOS

NEGATIVO: CULTIVO DE LIQUIDO PERITONEAL NEGATIVO A LOS SIETE (7) DIAS DE INCUBACIÓN

POSITIVO: INFORMAR MICROORGANISMO IDENTIFICADO Y PERFIL DE RESISTENCIA.



GERMENES AEROBIOS

FUNDAMENTO:

La interacción dinámica y compleja que se establece entre los huéspedes humanos y los microorganismos patógenos es consecuencia tanto de los componentes microbianos como de los mecanismos inmunológicos inespecíficos y específicos de defensa del huésped. De estas interacciones depende precisamente el hecho de que un microorganismo no establezca relación alguna con un huésped humano, y constituya parte de su microbiota normal o que lo invada y cause enfermedad.

CULTIVO FARINGEO

La faringitis aguda es un síndrome inflamatorio de la faringe causado por diferentes grupos de microorganismos. La más importante de las infecciones bacterianas es debida a los Streptococcus Beta-Hemolítico del grupo A, *Streptococcus pyogenes*, la cual debe ser identificada correctamente pues puede causar afecciones posteriores en el paciente como Fiebre reumática aguda y Glomerulonefritis aguda. Otros agentes aislados frecuentemente son: Streptococcus Beta hemolíticos Grupo C, G y F, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, infecciones anaeróbicas mixtas (Angina de Vincent's), *Chlamydia pneumoniae*, *Neisseria*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Klebsiella pneumoniae*, que puede ser significativa en pacientes inmunosuprimidos. Es importante detectar estados portadores de *Streptococcus pyogenes*, en los cuales la faringitis pasa desapercibida pero igualmente puede causar efectos secundarios.

PROCEDIMIENTO

Inocular los medios de cultivo, Sangre, MacConkey y chocolate (éste último únicamente para cultivos de niños menores de 5 años) con asa estéril, estriando en 4 cuadrantes. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey). Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate por 48 horas en adultos y 72 horas en niños, con lectura diaria de los cultivos.

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 48 o 72 horas de incubación o crecimiento de microbiota normal

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

SECRECIÓN OTICA

La otitis media es una entidad frecuente en niños, especialmente después de una infección viral de vías respiratorias y la otitis externa es más frecuente en adultos. Los principales patógenos a nivel auditivo son *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en niños. En el adulto se recuperan *Pseudomonas spp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacterias (Klebsiella spp, Proteus spp, E. coli)* y Streptococcus Beta-hemolíticos. Como microbiota encontramos *Corynebacterium spp* y *Staphylococcus epidermidis*.

PROCEDIMIENTO

Inocular los medios de cultivo, Sangre, MacConkey y chocolate con asa estéril, estriando en 4 cuadrantes. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate por 72 horas, con lectura diaria de los cultivos.

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas de incubación o crecimiento de microbiota normal

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

SECRECIÓN OCULAR

La conjuntivitis es un proceso de tipo inflamatorio como respuesta a un agente agresor de la mucosa que recubre la superficie ocular externa. Dentro de los patógenos más frecuentemente encontrados están: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacteriaceas*, *Staphylococcus epidermidis*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chlamydia trachomatis* etc.

PROCEDIMIENTO

Inocular los medios de cultivo, Sangre, MacConkey y chocolate con asa estéril, estriando en 4 cuadrantes. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂, únicamente para las placas de agar sangre y chocolate por 72 horas, con lectura diaria de los cultivos.

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas de incubación

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

ABSCEOS DENTALES

Las enfermedades gingivales son un grupo de entidades patológicas que se confinan en la encía y que son el resultado de una amplia variedad de etiologías, requiere de la presencia de la placa bacteriana para iniciar el proceso infeccioso.

Los Abscesos, son una acumulación de pus, producida en general por una infección bacteriana. Los microorganismos que con mayor frecuencia se asocian a estos procesos son *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *E. coli* y *Proteus*, Hongos, *Pseudomonas*, *Streptococcus Beta-Hemoliticos*, *Nocardias* y anaerobios como *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* y *Clostridium*.

PROCEDIMIENTO

Inocular los medios de cultivo, Sangre, MacConkey y chocolate con asa estéril, estriando en 4

cuadrantes. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate por 72 horas, con lectura diaria de los cultivos.

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas de incubación

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

SECRECIONES DE HERIDAS Y ABSCESOS

LIMPIEZA DEL ÁREA PARA LA TOMA DE LA MUESTRA:

La toma de muestras debe precederse de la limpieza y desinfección del área de la toma. En biopsias y heridas cerradas, se recomienda desinfectar la piel con clorhexidina al 2% o etanol de 70°, seguidamente limpiar con povidona yodada al 10%, dejar secar y eliminar el yodo con etanol antes de tomar la muestra. En heridas abiertas, se recomienda eliminar el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar a chorro con suero salino estéril.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Abscesos cerrados: se recomienda aspirar el pus con jeringa y aguja, preferiblemente a través de una zona de piel sana. Si así no se obtuviera una muestra, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo, y volver a aspirar. Una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se debe cambiar la aguja por otra estéril e inocular el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un tupo estéril. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

- Heridas abiertas: con una torunda se debe muestrear un área de aproximadamente 1 cm² del tejido celular subcutáneo de los bordes de la herida o de la base de la lesión. No se debe frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda con solución salina estéril antes de realizar la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato. Se enviará en un medio de transporte específico (por ejemplo, Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).

- Pus: se recomienda aspirar el pus de la zona más profunda de la herida con jeringa y aguja. La muestra se inoculará en un vial de transporte para anaerobios, como en el caso de los abscesos cerrados.

PROCEDIMIENTO

Inocular los medios de cultivo, Sangre, MacConkey y chocolate con asa estéril, estriando en 4 cuadrantes. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre

y chocolate por 72 horas, con lectura diaria de los cultivos.

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas de incubación

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

Aquellos especímenes que tengan solo una alícuota o porción y deban ser procesadas por otras secciones distintas a microbiología como: patología, química, biología molecular, entre otras. Deberán ser registradas en el Formato Control Muestras Inter Secciones ID-ADLAB-IN-26-F02 para garantizar que se cumplan todos los procesos de cada muestra.

SECRECIÓN VAGINAL

Las infecciones a nivel del tracto genital femenino pueden ser causadas por bacterias, virus, parásitos. La vaginitis es un crecimiento anormal en las secreciones vaginales, que se presenta con inflamación de las mucosas vaginales y la mucosa adyacente vulvar. El agente causal puede ser de origen exógeno o puede pertenecer a la flora residente normal que bajo ciertas circunstancias pueden provocar cuadros infecciosos.

CONDICIONES PREANALÍTICAS:

El día del examen debe realizarse el baño normal

Evitar tener relaciones sexuales tres días antes del examen

No aplicarse cremas ni duchas vaginales el día antes del examen.

No tomar antibióticos o suspenderlos 24 horas antes del examen.

No estar menstruando, excepto si el examen ordenado es un cultivo del flujo vaginal.

TOMA DE LA MUESTRA:

Especulo vaginal (Pacientes no embarazadas)

Escobillones estériles

Solución salina

Portaobjetos

Medio de transporte tipo Stuart-Amies

Para la toma adecuada de la muestra se debe colocar a la paciente en camilla ginecológica, ya que se requiere la visualización directa del canal vaginal a través de un especulo vaginal, este debe ser

introducido en la vagina sin utilizar lubricantes ni soluciones desinfectantes, puede utilizarse agua o suero fisiológico en casos estrictamente necesarios. En embarazadas no se coloca espéculo.

Se recomienda recoger el exudado de la zona donde éste sea más abundante, o en su caso, del fondo de saco vaginal posterior.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA:

FROTIS DE FLUJO VAGINAL:

El portaobjetos debe ser dividido en dos partes una vez este fue identificado con el Labcore correspondiente:

En la parte distal se debe realizar un extendido en forma e círculo del exudado endocervical, el cual fue tomado con un escobillón estéril

En la parte proximal de la lamina se debe realizar un extendido del fondo de saco vaginal posterior, cuya exudado debe ser tomado con un escobillón estéril diferente al usado para la muestra endocervical

Los dos escobillones tomados se deben introducir en el tubo con solución salina y enviar lo antes posible al laboratorio.

Posteriormente se debe tomar con medio de transporte la muestra para cultivo e introducir el escobillón en el medio con carbon activado, mantener a temperatura ambiente y enviar lo antes posible al laboratorio.

INOCULACION E IDENTIFICACIÓN

Para el cultivo, los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo, primero agar chocolate/thayer, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey, continuando con una siembra por agotamiento en estos. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate/thayer por 48 horas, con lectura diaria de los cultivos.

Reporte cultivo:

Negativo: Crecimiento de microbiota normal

Positivo: Se obtuvo crecimiento Escaso, Moderado o Abundante del (los) microorganismo(s) aislado(s). Tener en cuenta que se debe correlacionar lo observado en el gram con lo reportado en el cultivo.

SECRECION URETRAL, LIQUIDO PROSTATICO Y SEMINAL

En cuanto al tracto genital masculino, la uretritis es una enfermedad adquirida por transmisión sexual y causada por bacterias, virus y hongos que afectan el epitelio de transición y el columnar. La

forma clínica más frecuente es la uretritis Gonocócica que generalmente se presenta en el varón acompañada de abundante secreción inflamatoria por infección de la submucosa uretral, producida por *Neisseria gonorrhoeae*. Las otras formas clínicas se agrupan como uretritis no gonocócicas, algunas menos severas, dentro de las cuales los patógenos más frecuentes son: *Chlamydia trachomatis* (50% de casos de Uretritis), *Candida spp*, *Trichomonas vaginalis*, *Herpes Simple*, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma spp*.

También es posible encontrar otros microorganismos aerobios que hayan colonizado en tracto genital y puedan estar causando infecciones no solo a nivel uretral sino también en órganos como la próstata, causando infecciones de interés clínico.

PROCESAMIENTO

La muestra de secreción uretral puede llegar en medio de transporte, sin embargo si el microorganismo que se sospecha es *Neisseria gonorrhoeae* este no debe superar las 48 horas de recogida. Los líquidos seminal y prostático generalmente se recolectan e inmediatamente se procesan en el área de microbiología.

En cuanto a las láminas de Gram, en el caso de la secreción uretral se debe realizar en el momento de la toma de la muestra, mientras que en los líquidos se puede realizar en el momento del procesamiento del cultivo.

Se deben realizar siembras en agar sangre, MacConkey, chocolate y Thayer Martin. La siembra se debe realizar por inóculo y agotamiento por estria. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey).

En el caso de los líquidos se debe tomar una alícuota y sembrarla en caldo BHI para permitir el enriquecimiento del cultivo y ampliar las probabilidades de obtener crecimiento de un patógeno. Se debe hacer repique a las 24 horas a chocolate desde el BHI

Revisar los agaros cada 24 horas y reportar el desarrollo de estos. Si hay crecimiento aislar colonias de interés según sus características en los medios adecuados y luego de obtenido el crecimiento pasar al proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad.

RESULTADOS

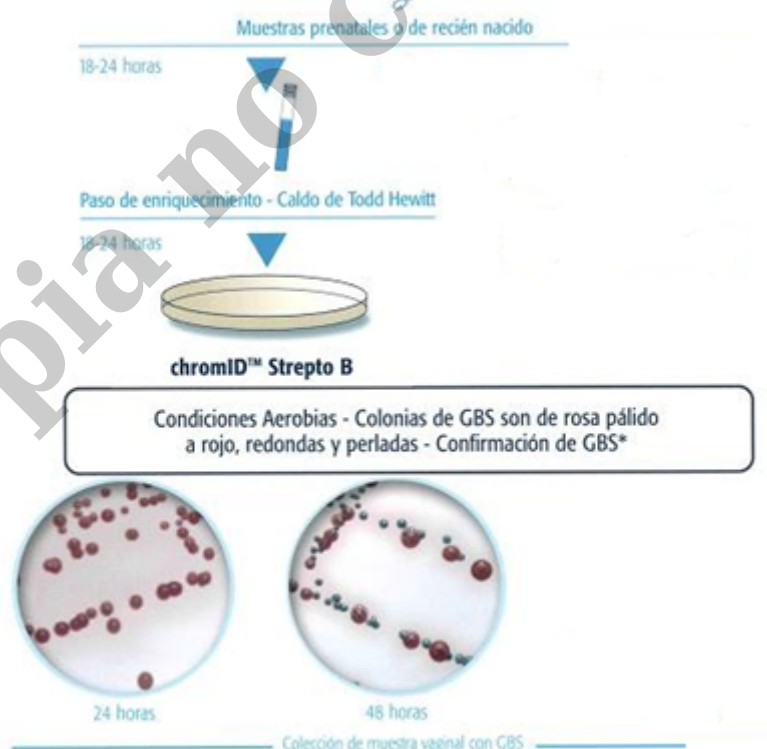
NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas o crecimiento de microbiota normal en el caso de la secreción uretral y líquido seminal

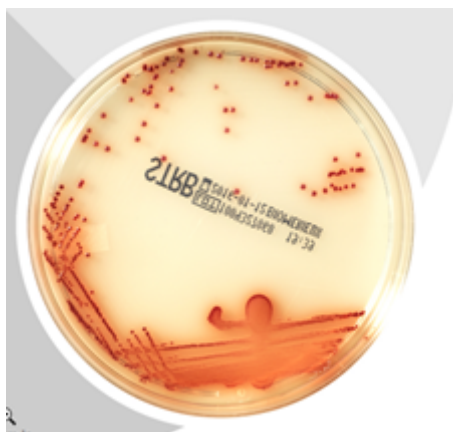
POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

TAMIZAJE PARA STREPTOCOCCUS AGALACTIAE (GRUPO B)

1. Para la toma de la muestra se debe tomar un solo medio de transporte, tomando primero muestra vaginal y luego rectal. También se pueden recibir las muestras tomadas por separado, una vaginal y otra rectal. No es necesario hacer lámina para coloración de gram ni fresco.
2. Teniendo el (los) medio de transporte, introducir en el caldo de enriquecimiento Todd Hewitt hasta resuspender la muestra.
3. Incubar el caldo a 37 °C entre 18 a 24 horas.
4. Realizar siembra del caldo al agar cromogénico STRB por aislamiento.
5. Incubar el agar a 37°C durante 18 a 24 horas en condiciones aeróbicas y en oscuridad. Realizar la primera lectura en busca de colonias rosa pálido a rojo, redondas y perladas presuntivas de *Streptococcus agalactiae*. El crecimiento de otro tipo de microorganismos se observará por el crecimiento de colonias violetas, azules o incoloras.
6. Si no se observan colonias presuntivas, prolongar la incubación hasta un máximo de 48 horas y realizar nuevamente la lectura.
7. Aunque hasta el momento *Streptococcus agalactiae* es sensible a ampicilina (tratamiento de elección), es preferible realizar susceptibilidad antibiótica debido a que pueden existir gestantes alérgicas a penicilina.

NOTA: Mantenga los medios cromogénicos siempre protegidos de la luz.





TAMIZAJE PARA QUINOLONAS

FUNDAMENTO:

Método útil en hombres para detectar microorganismos resistentes a quinolonas, se utiliza con un fin profiláctico antes de realizar biopsia de próstata.

PROCEDIMIENTO:

1. Se realiza la toma de muestra rectal en medio de transporte y se envía al laboratorio a temperatura ambiente.
2. Realizar siembra por agotamiento en agar sangre y Macconkey, se deja en incubación de 24 a 48 horas a 37°C
3. Se repican colonias sugestivas de *E. coli* o si se observa algún otro microorganismo con crecimiento único
4. Se realiza identificación y susceptibilidad por método automatizado

REPORTE:

Se reporta microorganismo identificado, y susceptibilidad a ciprofloxacina, ácido nalidixico y levofloxacina. En caso de presentar resistencia se reporta todo el antibiograma.

TAMIZAJE PARA MICROORGANISMOS MULTIRESISTENTES

FUNDAMENTO:

La resistencia combinada a múltiples antibióticos en algunas de las principales bacterias patógenas en humanos está aumentando en los últimos años. Este hecho está generando una importante amenaza para la salud pública y para la salud individual de los pacientes, debido a que limita de manera importante las alternativas terapéuticas frente a las infecciones producidas por estos patógenos. Aunque se han utilizado diferentes criterios y conceptos para definir la multiresistencia (MDR), Magiorakos et al. la definieron recientemente como la ausencia de sensibilidad a al menos un

antibiótico de tres o más familias consideradas de utilidad para el tratamiento de las infecciones producidas por cada una de las especies bacterianas consideradas. En este mismo trabajo se definió la resistencia extensa (XDR) como la ausencia de sensibilidad a al menos un antibiótico de todas las familias excepto una o dos y la panresistencia (PDR) como la ausencia de sensibilidad a todos los antibióticos de todas las familias habitualmente utilizadas en el tratamiento de la bacteria considerada. Aunque muchas son las especies bacterianas que ocasionalmente pueden generar brotes en los centros sanitarios, se abordan principalmente aquellas de mayor interés debido a su frecuencia, su impacto clínico y epidemiológico y las dificultades terapéuticas que suponen: *Staphylococcus aureus metilino resistente* (SARM), *Enterococcus spp.* resistente a los glucopéptidos (ERG), enterobacterias productoras de BLEE o productoras de carbapenemasas. Las opciones metodológicas disponibles en la actualidad para la detección de colonización por bacterias multirresistentes son múltiples lo que permite diferentes aproximaciones en función de las características de cada caso.

En este momento se realiza el tamizaje en agares cromogénicos para cada uno de los microorganismos que se requieren investigar. Estos medios permiten la diferenciación o selección de muchos microorganismos usando un sustrato cromogénico que da como resultado un color característico de cada género/ especie bacteriana. La incorporación de diferentes antibióticos en el medio de cultivo lo hace más selectivo permitiendo sólo el crecimiento del microorganismo resistente. Básicamente, las bacterias a estudiar suelen caracterizarse por tener enzimas específicas que son responsables de la escisión del sustrato en el interior del cromógeno. El enzima bacteriano libera el cromóforo y pueden ser detectados visualmente mediante la observación de un cambio de color en el medio. Sus principales ventajas son: i) la reducción del tiempo en dar el resultado; ii) un solo medio sirve para la detección de más de un organismo; iii) la interpretación del resultado es visual sin necesidad de equipamiento complejo; iv) la eliminación en su mayoría de análisis bioquímicos complejos para la identificación del patógeno, aunque en muchos casos se requieren pruebas confirmatorias; y v) la capacidad de realizar pruebas adicionales sobre la propia colonia aislada en el medio.

TIPO DE MUESTRAS:

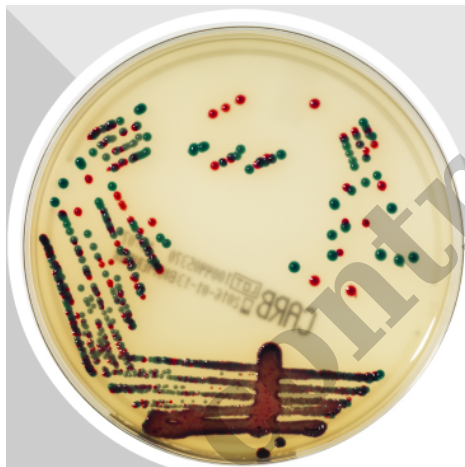
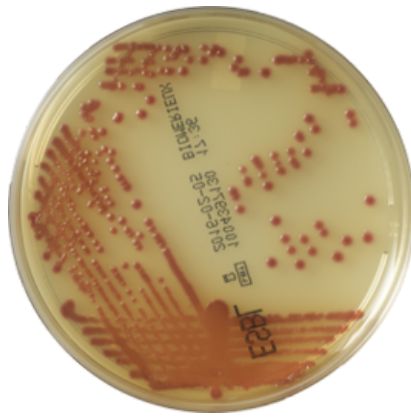
El tracto gastrointestinal de los pacientes en hospitalización constituye el principal reservorio de enterobacterias multirresistentes y ERG en el ambiente hospitalario. Por este motivo, las muestras más habituales para el cultivo de vigilancia de son las muestras rectales. En determinadas situaciones clínicas, como es el caso de SARM, se pueden aceptar otras muestras como la orina, los exudados de herida, así como las muestras nasales o faríngeas.

Indicaciones orientativas sobre el interés cualitativo de diferentes muestras clínicas para la investigación de patógenos multirresistentes con fines epidemiológicos.							
Microorganismo	Muestra clínica						
	Rectal/Heces	Perineal	Faringe	Nasal	*Aspirado traqueal	*Heridas/ulceras	*Orina
SARM	-	+	+++	++++	+++	+++	++
<i>Enterococcus</i> spp. resistente a los glucopéptidos	++++	++++	-	-	-	+++	++
Enterobacterias productoras de BLEE, AmpC-p y carbapenemasas	++++	++++	+	-	-	+	+++
<i>A. baumannii</i> multirresistente	++++	++++	++++	-	++++	+++	+++
<i>P. aeruginosa</i> multirresistente	+++	+++	++++	-	++++	+++	+++

*En la Tabla se mencionan determinadas muestras específicas que pueden ser útiles en circunstancias específicas como es el caso de pacientes con ventilación mecánica o traqueostomía (muestra respiratoria), solución de continuidad en la piel (exudados de úlceras o heridas) o sonda vesical (orina).

PROCEDIMIENTO:

1. Se realiza la toma de muestra rectal o del sitio anatómico donde el médico ordene en medio de transporte y se envía al laboratorio a temperatura ambiente.
2. Realizar siembra por agotamiento en los agares cromogénicos según corresponda. Para tamizajes rectales, se debe sembrar en agares que detecten la presencia de BLEE, Carbapenemasas, y ERG. Para tamizajes en búsqueda de SARM, se siembra únicamente en el medio específico para tal fin.
3. La incubación se realiza por 48 horas a 37°C con revisión de los medios cada 24 horas.
4. Se realiza repique a agares sangre/MacConkey de colonias sugestivas que se observen en el agar.
5. Se realiza identificación y susceptibilidad por método automatizado para confirmar la presencia de microorganismos multiresistentes.



REPORTE:

Negativo:

- **SARM:** En los casos de sospechar SARM, si a las 48 horas no hay colonias con la coloración característica definida por el fabricante para SARM, se informará: "No se aísla *S. aureus* resistente a la meticilina" (SARM negativo).
- **ERG:** Si después de 48 horas el cultivo es negativo para ERG se informará como "No se aísla enterococo resistente a glucopéptidos"
- **BLEE:** Si tras 48 horas el cultivo es negativo o bien no se confirma la presencia de una enterobacteria productora de BLEE se informará como "Negativo para enterobacterias productoras de BLEE".
- **CARBAPENEMASAS:** Si tras 48 horas el cultivo es negativo o bien no se confirma la presencia de una enterobacteria productora de carbapenemasas se informará como "Negativo para

enterobacterias productoras de carbapenemasa”.

Positivo:

- **SARM:** En caso de aislarse un microorganismo con la coloración característica definida por el fabricante y confirmado por el método automatizado, se informará: “Se aísla *S. aureus* resistente a la meticilina” (SARM positivo)
- **ERG:** Si el cultivo es positivo para ERG se informará como “Se aísla *E. faecium* / *E. faecalis* resistente a vancomicina” (indicar la especie identificada). Confirmar por método automatizado.
- **BLEE:** El aislamiento de una enterobacteria en la que se confirma la producción de una BLEE se informará como “Positivo para microorganismos productores de BLEE”.
- **CARBAPENEMASAS:** El aislamiento de una enterobacteria en la que se confirma la producción de una carbapenemasa se informará como “Positivo para microorganismos productores de carbapenemasa”. Se deben informar las pruebas confirmatorias realizadas.

CULTIVO PARA ANAEROBIOS

Examen no disponible en el momento.

FUNDAMENTO:

Se puede definir a las bacterias anaerobias como aquellas que para crecer en la superficie de un medio de cultivo necesitan una atmósfera sin oxígeno, ya que este elemento es tóxico para ellas. El hábitat de las bacterias anaerobias está limitado a zonas corporales del hombre y de los animales donde la tensión de oxígeno es baja. Forman parte de la microbiota normal como comensales y mutualistas, jugando un importante papel en la resistencia inespecífica a la infección. Son particularmente frecuentes en la boca (especialmente en la placa dental sobre todo en su porción subgingival) y en las vías respiratorias altas, vagina e intestino (en especial en colon, recto y en las heces, donde superan a los aerobios y a los microorganismos facultativos). A partir de aquí pueden contaminar de forma pasajera la piel, sobre todo la del periné.

MUESTRAS EMPLEADAS:

Como las especies encontradas en las diferentes infecciones son, con la excepción de algunos clostridios, las mismas que se hallan en la microbiota habitual, para que los estudios microbiológicos tengan valor es necesario que las muestras sean tomadas de forma que la microbiota no las contamine. Por ello que no se deben estudiar muestras nasales, orales, de vías respiratorias bajas recogidas por procedimientos que no impidan su contacto con bacterias de otras localizaciones, cutáneas, vaginales, urinarias tomadas por micción o sondaje o digestivas, salvo para procesos muy concretos, como botulismo, diarrea asociada a antimicrobianos y toxiinfección por *C. perfringens*. En los abscesos cerrados, empiemas, infecciones de cavidades cerradas y líquidos habitualmente estériles las muestras se deben tomar, si es posible, por punción percutánea-aspiración, empleando las medidas de desinfección preconizadas para los hemocultivos, o en el transcurso de prácticas quirúrgicas. En estas y en otras situaciones se desaconseja el uso de torundas. Las muestras de

sangre se deben sembrar en frascos de hemocultivos para anaerobios siguiendo las directrices marcadas en el procedimiento correspondiente para este análisis microbiológico. Las muestras quirúrgicas y las biopsias también son idóneas para la investigación de bacterias anaerobias. En las infecciones abiertas es necesario recurrir a muestras representativas, que deben ser de la parte profunda, tomadas quirúrgicamente por aspiración percutánea o tras la eliminación de los tejidos necróticos superficiales por curetaje o por aspiración. En su defecto, se puede tomar la muestra con un hisopo de la base de la lesión.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA

En el transporte de una muestra para la búsqueda de bacterias anaerobias se debe evitar la presencia de oxígeno, aunque estas pueden sobrevivir varias horas, incluso días, en un medio de transporte adecuado. Pueden recibirse jeringas siempre y cuando la muestra sea procesada inmediatamente la que el oxígeno difunde a través de la estructura de plástico de sus paredes. Las muestras de tejidos y biopsias quirúrgicas se remitirán en un frasco estéril. En los casos en que solamente sea posible obtener la muestra mediante torunda, se utilizarán para su envío tubos adecuados, con un medio de transporte adecuado. El envío de las muestras al laboratorio de microbiología debe ser inmediato. Se deben transportar manteniéndolas a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO:

Depositar una gota, si la muestra es purulenta, o 2- 3 gotas, si no lo es, en cada uno de los medios de cultivo utilizados (Schaedler y chocolate), una gota en un portaobjetos para la tinción de Gram y el resto en un medio líquido de enriquecimiento (Tioglicolato). Introducir los medios en bolsa para anaerobiosis y monitorizar el ambiente anaerobio con una tira indicadora de azul de metileno o de resazurina. Incubar a 35-37°C y realizar revisión de los medios a las 48 horas. Si en las placas no se observa ningún crecimiento se deben reincubar hasta completar 7 días. Se aconseja mantener la incubación del medio líquido de enriquecimiento entre 7 y 10 días y se deben realizar subcultivos, si se aprecia turbidez u otro signo de crecimiento, en agar sangre y agar chocolate que se incubarán en una atmósfera con 5% de CO₂, y en agar Schaedler incubado en anaerobiosis. Este mismo proceder se realiza al final del periodo de incubación si no se ha detectado crecimiento para considerarlo definitivamente estéril.

INFORME:

Negativo a los 10 días de incubación

Positivo: Se debe realizar identificación del microorganismo. No se realiza antibiograma

CULTIVO DE BIOPSIA DE TEJIDOS Y HUESOS

RECOMENDACIONES

- Tejidos obtenidos mediante curetaje y biopsias: se recomienda obtener suficiente muestra, evitando las zonas necróticas. Estas muestras pueden obtenerse mediante punción-aspiración con aguja fina o con cualquier dispositivo al efecto (por ejemplo, biopsia con sacabocados también llamada "punch"), o mediante procedimiento quirúrgico abierto.
- En quemaduras, se recomienda realizar dos incisiones paralelas de unos 1-2 cm. de longitud separadas 1,5 cm.; luego, con un bisturí y pinzas estériles, se obtendrá una muestra lo suficientemente profunda como para llegar hasta el tejido viable.
- En determinadas heridas (como las quemaduras o las heridas crónicas) se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la herida, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de la infección. Los fragmentos se introducen en contenedores estériles en suero salino estéril para evitar su desecación. Las biopsias se deben

fraccionar en dos mitades, una se enviará para estudios microbiológicos y la otra para estudio histológico.

PROCEDIMIENTO:

Esta muestra debe llegar en tubo estéril tapa rosca, debidamente rotulado con datos del paciente y respectiva orden completa indicando tipo de examen requerido.

1. Depositar el fragmento de tejido en medio BHI de manera que quede totalmente cubierto, e incubar a 37°C.



2. La primera lectura del cultivo se realiza a las 24 horas de incubación, si no se observa turbidez se reincubará.

3. A las 48 horas se realizará repique a los agares sangre, macconkey, chocolate, y se debe realizar lámina para coloración de gram. Los medios se deben inocular comenzando por el medio más general hasta el más selectivo (primero agar chocolate, agar sangre y posteriormente en agar Mac Conkey).



4. Incubar las placas a 35-37°C, en atmósfera enriquecida con 5% CO₂ únicamente para las placas de agar sangre y chocolate.

PROTOCOLO PARA EL RECuento DE COLONIAS EN TEJIDOS

1. Homogenizar una cantidad previamente pesada de la muestra en un volumen conocido de diluyente que puede ser solución salina estéril o medio de enriquecimiento
2. Realizar la siembra en agar chocolate, macconkey y sangre por agotamiento en rejilla de los siguientes volúmenes:
 - a. 0.1 ml (factor de dilución: 10)

- b. 0.01 ml (factor de dilución: 100)
- c. 0.001 ml (factor de dilución: 1000)
3. Incubar a 37°C por 24 horas
4. Realizar recuento de las placas y escoger para el recuento la placa que tenga entre 30-300 colonias
5. Aplicar la siguiente formula:

$UFC/gr = \text{No de Colonias} \times F.D \times \text{Volumen (ml) de diluyente/gr de muestra}$

RESULTADOS

NEGATIVO: Cultivo negativo a las 72 horas de incubación

POSITIVO: Reportar el microorganismo identificado con su respectivo perfil de sensibilidad.

CULTIVO DE HONGOS Y MONTAJE EN FRESCO

FUNDAMENTO:

La colonización o invasión de una especie fúngica se denomina micosis. La mayoría se adquieren por inhalación o inoculación de conidias o esporas. El tipo de micosis va a depender de las propiedades tanto del parásito (capacidad patógena) como del huésped (inmunidad) como de la ecología (distribución y acceso o terreno adecuado). Hay especies saprofitas de distribución universal (*Aspergillus*), otras en zonas geográficas concretas (micosis endémicas - *Coccidioides immitis*) y un tercer grupo cuyo hábitat es la piel y mucosas del ser humano (*Malassezia furfur*, *Candida albicans*).

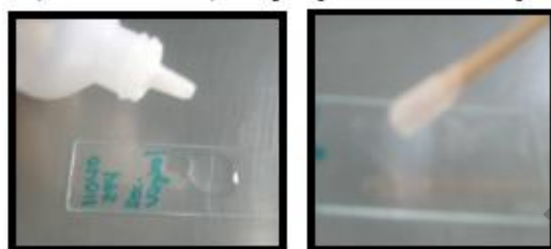
El modo de transmisión será para las especies saprofitas por inhalación o inoculación y para las comensales por contacto o endógena (de tejido a tejido) por lo que depende de la inmunidad del huésped (normalmente habrá un equilibrio estable). La mayoría de dermatofitosis se adquieren por contacto interhumano (especies antropofílicas) o con animales (especies zoofílicas). Las micosis pueden estar producidas por hongos "patógenos" y por "oportunistas". En los primeros, la infección depende de la cantidad de inóculo y la inmunorrespuesta provocará la aparición de un granuloma (*Histoplasma*). En los segundos influirá la disminución de la inmunorrespuesta del huésped (*Candida*)



EXAMEN DIRECTO

El exámen fresco: permite la identificación rápida de las micosis. Sobre el portaobjetos con el material sospechoso se añadirán unas gotas de Solución salina estéril.

Si se desea un análisis más específico, se empleará hidróxido de potasio del 20 al 40% y tinta china o una tinción modificada de PAS (ácido peryódico de Schiff). Si es positivo se observará la presencia de esporas o micelios. Cuando el material a examinar es pelo es interesante observar si la parasitación sucede dentro (endhotrix) o fuera (ecthotrix) de él para poder identificar la especie. En los casos en que se ordene KOH en secreciones o líquidos, se puede realizar observación de las blastoconidias con la coloración de gram.



PROCEDIMIENTO

El medio de cultivo más utilizado es el de Sabouraud que emplea como base un agar azucarado al que se adicionan distintos tipos de sustancias, unas que inhiben el desarrollo de contaminantes (clorhexidina) y otras que estimulan el crecimiento de los hongos (tiamina, extracto de levadura). La incubación es entre 20º y 30º, en aerobiosis, y su crecimiento es lento, desde 5 a 7 días (algunas levaduras) hasta 3 ó 4 semanas dependiendo de la especie. Durante su desarrollo se va observando la forma, el color, velocidad de crecimiento lo que orientará en su filiación, pero la identificación definitiva se hará a través de la observación microscópica de las hifas, esporas o conidias. Las muestras en las que se sospeche una infección por dermatofitos, se deben sembrar además del agar saboureaud, en agar Mycosel, para inhibir el crecimiento de hongos contaminantes que puedan estar presentes como saprofitos o que se hayan recogido del mismo ambiente y junto con el crecimiento obtenido en agar saboureaud realizar la correlación respectiva del (los) microorganismo(s) que se haya(n) aislado.

La muestra, sean escamas, uñas, pelos, se deben sembrar realizando varias estrías en el medio y en profundidad.

Si se trata de secreciones o líquidos, se puede realizar siembra por agotamiento y de igual manera realizar siembra en profundidad y se deben sembrar un agar saboureaud para favorecer crecimiento micelial es decir a 20-30°C y otro para favorecer crecimiento de levaduras, es decir a 37°C. Si se trata de muestras respiratorias que se deban procesar de manera semicuantitativa, de igual manera realizar diluciones para el cultivo de Hongos



Resultados:

A las 4 semanas se evalúa el crecimiento de hongos en los medios anteriormente mencionados y luego de realizar la interpretación respectiva, en el caso de las levaduras se debe realizar un repique a agar saboureaud para obtener un crecimiento de una cepa fresca y pura que se pueda llevar a proceso de identificación y susceptibilidad si es el caso.

En el caso de obtener crecimiento de hongos filamentosos la identificación se debe realizar en base a las características macroscópicas y microscópicas del hongo aislado.

Dentro de las características macroscópicas se deben tener en cuenta aspectos como color de la colonia, aspecto de las esporas y de estructura basal, entre otras. Para la evaluación de las características microscópicas se debe tomar una muestra del cultivo que se obtuvo a 26°C y suspenderlo en una gota de azul de lactofenol en una lamina portaobjetos, cubrir la preparación con una laminilla y observar al microscopio en 10 y 40x para observar características propias de cada género como forma de las esporas, formación de las hifas, presencia o ausencia de conidias, entre otras que permitan realizar una adecuada identificación.

Reporte:

Negativo: Negativo a las 4 semanas de incubación

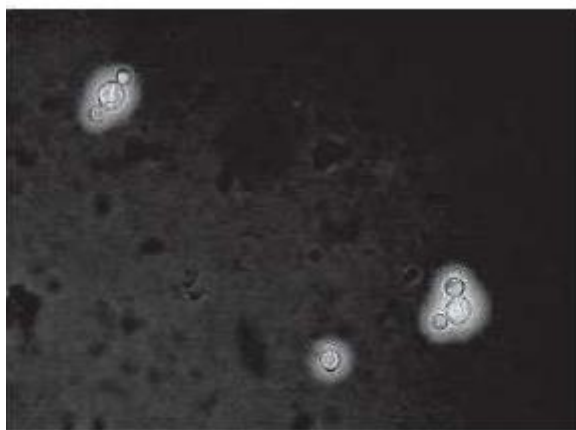
Positivo: Positivo para el (los) hongos aislados

TINTA CHINA

FUNDAMENTO:

La cápsula de las bacterias están compuestas generalmente de hidratos de carbono, las de las levaduras de Ergosterol e hidratos de carbono, estos compuestos repelen las partículas de tinta china, dejando un espacio transparente entre el microorganismo y la tinta.

La coloración de tinta china es de gran utilidad en el diagnóstico de Criptococosis, en observación de cápsula de pneumococo y otras bacterias. El *Cryptococcus neoformans* es un hongo patógeno que se encuentra como habitante normal de heces de paloma y detritus de árboles cuya puerta de entrada para infección en humanos es vía pulmonar, causando luego meningitis por diseminación central rápida a Sistema nerviosos en pacientes inmunocomprometidos y algunos pacientes no inmunocomprometidos



Levaduras encapsuladas de *Cryptococcus neoformans* en una preparación con tinta china de un líquido cefalorraquídeo de un paciente con criptococosis meningea.

PROCEDIMIENTO

1. Centrifugar la muestra para concentrarla por 15 min. a 3000 g en caso de ser líquida.
2. Colocar una gota del sedimento de la muestra en una lamina nueva con una gota de tinta china, mezclar bien homogenizando. Colocar la laminilla



3. Luego de 2 min. Observar al microscopio inicialmente en 10x y luego en 40 x toda la preparación en búsqueda de Blastoconidias capsuladas compatibles con *Cryptococcus*. Revisar toda la preparación cuidadosamente.

REPORTE:

Positivo: Se informa "Positivo para levaduras encapsuladas"

Negativo: Se informa "Negativo para levaduras encapsuladas"

COPROCULTIVO



FUNDAMENTO:

Las heces, materia fecal, excremento o deposiciones son el conjunto de los desperdicios

generalmente sólidos (o, casi siempre por algún padecimiento, a veces también líquidos) que genera todo ser viviente como producto final del proceso de la digestión.

La colección y preservación adecuada de muestras de heces para coprocultivos es a menudo dispendiosa pero necesaria para el aislamiento de microorganismos causantes de procesos infecciosos gastrointestinales, se logra con la utilización de medios selectivos los cuales inhiben el crecimiento de ciertos gérmenes no deseados y estimulan el crecimiento de aquellos que se desea investigar, en este caso se utiliza el agar SS (Salmonella y Shigella) agar Hectoen y como medio de enriquecimiento se utiliza el caldo selenito.

La muestra de materia fecal debe ser recolectada en la fase primaria de la enfermedad, cuando los patógenos están presentes en la muestra en gran cantidad y preferiblemente antes de iniciar tratamientos con antimicrobianos.

1. Realizar la siembra inicial de la muestra en agar Sangre/MacConkey sorbitol y homogenizando un fragmento de muestra en caldo tetracionato. Añadir a éste último 1 ml de lugol.



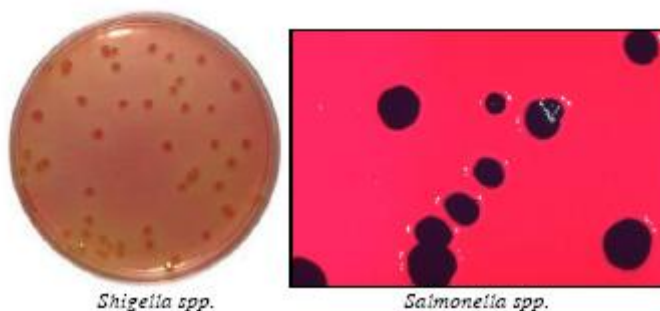
2. Incubar el caldo de 6 a 12 horas a 37°C.

3. Realizar resiembra por agotamiento del caldo Tetracionato en agar XLD y Hectoen entérico.



4. Incubar todos los agares a 37°C y efectuar su lectura a las 24 horas cumplidas.

5. En caso de evidenciar microorganismos de lento crecimiento, se deben incubar las cajas por 48 horas.



6. En los cultivos de adultos solo son importantes las colonias transparentes y de punto negro, productoras de H₂S en los agares XLD y Hecktoen.

7. En caso de observar colonias sorbitol negativas en el agar MacConkey sorbitol, realizar identificación de la colonia y verificar que efectivamente se trate de colonias sorbitol negativas de *Escherichia coli* que pueden ser sospechosas de ser enteropatógenas. La confirmación final se realiza directamente en la secretaría de salud donde deben confirmar dicho hallazgo.

8. En caso de observar levaduras o *Staphylococcus aureus* o *Pseudomonas* en pacientes hospitalizados, es importante realizar pruebas de identificación y sensibilidad.

Resultados

Cultivo:

Negativo: Negativo para enteropatógenos tipo *Salmonella* *Shigella* (Incubación 48 horas).

Positivo: Se obtuvo crecimiento Escaso, Moderado o Abundante del (los) microorganismo(s) aislado(s), con su respectivo antibiograma.

Nota: Recuerde que microorganismos entéricos que hacen parte de la flora normal, pueden volverse oportunistas cuando el paciente está en los extremos de la vida (< de 1 año de edad y > de 60 años de edad) y que presenten estados de inmunosupresión.

ANTIBIOGRAMA MANUAL

FUNDAMENTO

El primer objetivo del antibiograma es el de medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. En efecto, la sensibilidad *in vitro* es uno de los requisitos previos para la eficacia *in vivo* de un tratamiento antibiótico. El antibiograma sirve, en primer lugar, para orientar las decisiones terapéuticas individuales.

El segundo objetivo del antibiograma es el de seguir la evolución de las resistencias bacterianas. Gracias a este seguimiento epidemiológico, a escala de un servicio, un centro de atención médica, una región o un país, es como puede adaptarse la antibioterapia empírica, revisarse regularmente los espectros clínicos de los antibióticos y adoptarse ciertas decisiones sanitarias.

En los casos que se requiera realizar un antibiograma de manera manual, se puede realizar por medio de sensidicos o por medio de e-test.

En 1966, después de los estudios realizados por Bauer, Kirby, Sherris y Turk, ensayando diferentes cepas bacterianas, el empleo de los discos de papel de filtro para las pruebas de sensibilidad fue estandarizado y correlacionado definitivamente con las CMI correspondientes. Así pues, el método

de disco difusión en agar, durante muchos años y a pesar de ser una técnica puramente cualitativa, el método de difusión por disco (o método Kirby-Bauer), en función sobre todo de su comodidad, economía y fiabilidad, ha sido, y aun es, uno de los más utilizados en los laboratorios de todo el mundo.

Por otro lado, el e-test es una técnica que combina la difusión de disco y dilución en agar y tiene la ventaja frente a otros métodos de obtener de manera rápida un resultado cuantitativo en concentración mínima inhibitoria (MIC) que se traduce en una interpretación según las guías internacionales de puntos de corte para cada microorganismo.

La técnica se compone de una tira sólida de material inerte con un gradiente exponencial de 15 a 20 diluciones seriadas del antimicrobiano de los cuales actualmente se dispone de beta-lactámicos, glicopéptidos, aminoglucósidos, macrólidos, quinolonas, lincosamidas, entre otros. Por la cara inferior y una escala de lectura en la cara superior. Las concentraciones de E-test corresponden a las clínicamente relevantes según los géneros relacionados a los cuales se les puede realizar el test.

En Idime, en los casos en que se requiera algún antibiótico adicional a los probados frente al microorganismo en estudio, o que el equipo no arroje un resultado concluyente del mismo, se puede realizar el antibiograma por disco difusión.

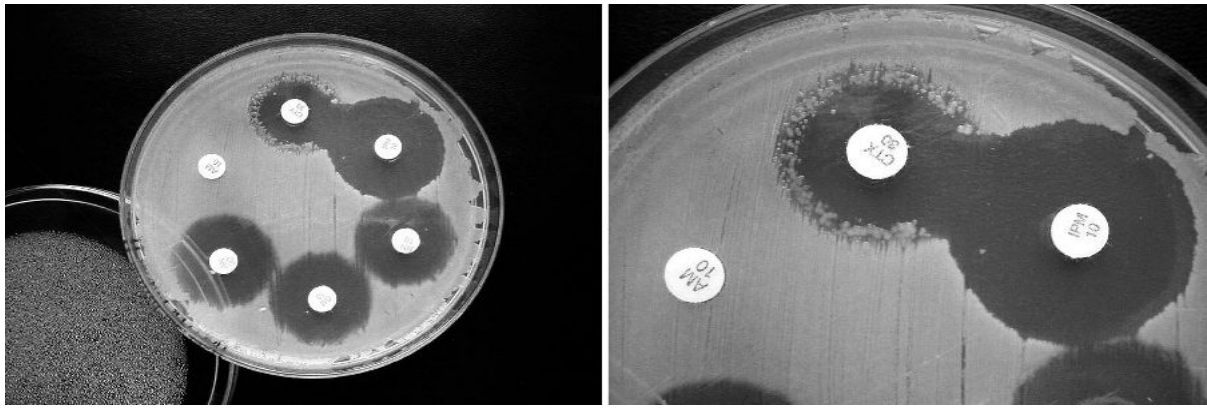
En los casos en que se requiera confirmación de Piperacilina/Tazobactam a todos los aislamientos de *Serratia marcescens* y a los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* que se hayan encontrado como "Resistentes", se realizará e-test de este antibiótico

PROCEDIMIENTO

- Realizar una suspensión 0.5 McFarland del microorganismo que se evaluará
- Hacer una siembra masiva en agar Mueller-Hinton con la suspensión preparada
- Colocar los sensidiscos o la tira del E-test en la caja de Petri inoculada con el microorganismo
- Incubar a 35°C de 18 - 24 horas
- Realizar la lectura del resultado

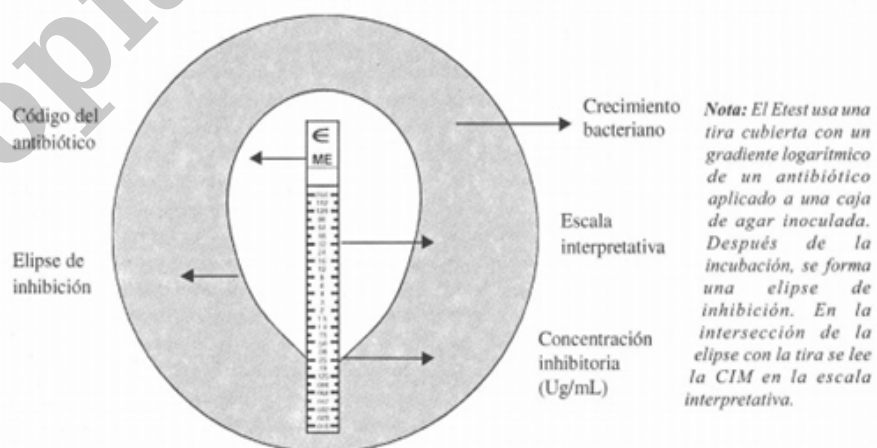
INTERPRETACION

Para la interpretación de los sensidiscos, es necesario medir el halo de inhibición obtenido y comparar con las guías internacionales, con el fin de realizar interpretación de la sensibilidad al antibiótico probado como sensible, resistente o intermedio.



Para la interpretación de los e-test, cuando se observa un crecimiento visible, se puede ver la formación de una elipse de inhibición, del cual el borde inferior intercepta longitudinalmente con la tira en la concentración que cause la inhibición y cese el crecimiento bacteriano, siempre se debe leer el punto de completa inhibición. El punto de intersección, es considerado como el valor de concentración inhibitoria y puede ser reportado como valor final cuantitativo o puede reportarse su interpretación consultando las guías internacionales según los puntos de corte ya definidos para cada antimicrobiano según el microorganismo evaluado.

FIGURA 1. Principio del Etest.



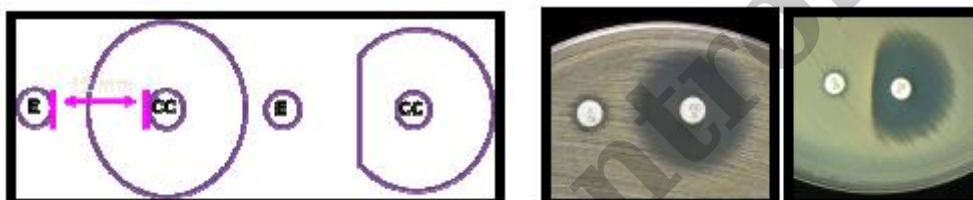
PRUEBAS MANUALES Y CONFIRMATORIAS EN GRAM POSITIVOS

1. Inducción de resistencia: Test D

Se realiza para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN), *Streptococcus betahemolíticos*, *Streptococcus pneumoniae*, con resistencia a eritromicina y sensibilidad a clindamicina, en búsqueda de la resistencia inducible, con el fin de establecer una terapéutica alternativa frente a resistencia o alergias a la Penicilina. Es útil para la detección de MRSA adquiridas en la comunidad con falla terapéutica por uso de cefalosporinas.

La prueba emplea la técnica de difusión en disco: Realice una escala Mc Farland 0,5 por técnica de Kirby Bauer y ubique un sensidisco de Clindamicina a una distancia aproximada de 12 a 15 mm de distancia un sensidisco de Eritromicina e incubar a una temperatura de 35°C por 24 horas.

Si se forma una D, la prueba será considerada positiva y tanto Eritromicina como Clindamicina deberán considerarse resistentes.



2. Confirmación de Resistencia a Oxacilina mediada por el gen *mecA*

La Resistencia a oxacilina en *S. aureus* está determinada por la producción y alteración de una PBP de baja afinidad, llamada PBP2a o PBP2', codificada por el gen *mecA*, el cual confiere resistencia a todos los antibióticos beta-lactámicos.

Las pruebas se realizan con un disco de cefoxitin 30 ug, para lo cual deberá realizarse una estandarización de inóculo 0.5 McFarland, incubar a una temperatura de 35°C por 24 horas, e interprete:



≤ 21mm = Resistente
 ≥ 22mm = Sensible

Para *S. aureus* y *S. lugdunensis*, halos ≤ 21 mm indican *mecA* positivo, halos ≥ 22 mm indican *mecA* negativo

Para *Staphylococcus coagulasa negativos*, halos ≤ 24 mm indican *mecA* positivo, halos ≥ 25 mm indican *mecA* negativo.

Cepas *mecA* positivas deben ser reportadas como resistentes a oxacilina (no a cefoxitin) y a los β-lactámicos, excepto aquellos con actividad anti MRSA.

3. CATALASA:

FUNDAMENTO:

La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias. Descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno

PROCEDIMIENTO:

Se requiere colocar en una lámina portaobjetos, una gota de peróxido de hidrógeno. Con un palillo, tomar la colonia sin tocar el agar y suspender en el peróxido. El desprendimiento de burbujas indica que la prueba es positiva.

Control de la prueba

Control Positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Control Negativo *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

4. COAGULASA

FUNDAMENTO:

La coagulasa es una proteína termoestable similar a la trombina, que activa el fibrinógeno para formar fibrina. La presencia de la enzima se evidencia en el tubo de ensayo por la formación de un coágulo cuando se inocula plasma con colonias de *Staphylococcus*. Aunque el microorganismo mayormente conocido como coagulasa positivo es el *Staphylococcus aureus*, hay que tener en cuenta que *Staphylococcus intermedius* también es coagulasa positiva.

PROCEDIMIENTO:

1. Utilice 1 ml de plasma a temperatura ambiente contenido en un tubo sin aditivo
2. Inocule con una colonia que haya crecido en medio no selectivo
3. Incube a 35°C sin CO₂ hasta por 4 horas observando la formación del coágulo cada hora. No agite el tubo. Solo debe inclinarlo.
4. La formación del coágulo indica una prueba positiva

Control de la prueba

Control Positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Control Negativo *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

5. OPTOQUINA

FUNDAMENTO:

Streptococcus pneumoniae y *Streptococcus* grupo *viridans* son cocos Gram positivos que presentan colonias alfa hemolíticas cuando crecen en medios sólidos suplementados con 5-10 % de sangre de carnero. Se pueden diferenciar mediante la realización de pruebas bioquímicas como ser la prueba de sensibilidad a la optoquina. La optoquina inhibe el desarrollo de *Streptococcus pneumoniae* mientras que otros estreptococos no son inhibidos o presentan una zona pequeña de inhibición alrededor del disco.

PROCEDIMIENTO:

A partir de un cultivo puro del microorganismo en estudio, utilizando un hisopo o un asa de inoculación estéril, inocular una placa de Agar Sangre en las cuatro direcciones para cubrir toda la superficie del medio de cultivo. Luego colocar un disco de Optoquina sobre la superficie del agar. Incubar en atmósfera 5% de CO₂, a 35-37°C durante 18 - 24 horas.

INTERPRETACION:

Sensible: Halo de inhibición del desarrollo microbiano, de diámetro mayor o igual a 14 mm es presuntivo para *Streptococcus pneumoniae*. Las zonas de inhibición inferiores a 14 mm de diámetro son cuestionables para *Streptococcus pneumoniae* y deben ser confirmadas por pruebas adicionales.

Resistente: Crecimiento no inhibido alrededor del disco o diámetro menor a 14 mm.

Control de la prueba

Control Sensible *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

Control Resistente *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

PRUEBAS MANUALES Y CONFIRMATORIAS EN GRAM NEGATIVOS**1. Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEEs)**

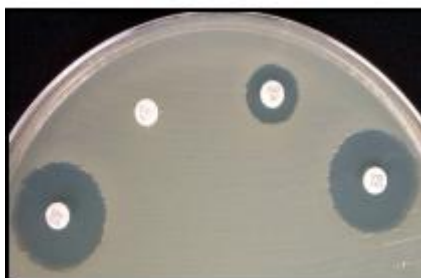
Las betalactamasas son enzimas que hidrolizan irreversiblemente el enlace amida del núcleo betalactámico de antibióticos Betalactámicos, transformándolos en compuestos inactivos, incapaces de ejercer su acción antibiótica.

Se presentan con frecuencia en bacterias gram negativas como *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y *P. mirabilis* y otras Enterobacterias. Son inhibidas por el Ácido Clavulánico.

Las pruebas se realizan con discos de Cefotaxime, Cefotaxima con ácido clavulánico, Ceftazidime y Cefazidime con ácido clavulánico, para lo cual deberá realizarse una estandarización de inóculo 0.5 McFarland, realizar siembra masiva en agar mueller hinton e incubar a una temperatura de 35°C por 24 horas.

Si el halo de inhibición del sensidisco con el Ácido Clavulánico supera al generado por el sensidisco sin el inhibidor (cefotaxime o ceftazidime) en 5 o más milímetros, se confirmará la presencia de la resistencia, y deberá hacerse la anotación de su correspondiente regla de supresión.

Se debe realizar control de calidad mensual del correcto funcionamiento de los sensidiscos utilizados, utilizando cepas ATCC productoras y no productoras de BLEE. Registrar el resultado obtenido en el formato correspondiente.

**Control de la prueba**

Control positivo *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

Control negativo *Escherichia coli* ATCC 25922

2. Método modificado de inactivación de carbapenemasas para *Enterobacteriaceae*

Principio:

La prueba tiene como finalidad detectar cepas productoras de carbapenemasas. A diferencia del test de Hodge que no tiene una buena sensibilidad frente a Metalobetalactamasas (12%) y del Carba NP que no tiene una buena sensibilidad frente a OXA-48 (38.5%), esta prueba detecta el 100% de las KPC y las OXA 48 y entre un 96% a 100% de las Metalobetalactamasas.

Es un método mediante el cual se puede evaluar de manera fenotípica la capacidad de una cepa de inactivar un carbapenem, lo que se traduce en la posibilidad de presentar resistencia a estos antimicrobianos mediante la producción de carbapenemasas. Se ha logrado establecer que esta técnica tiene una mayor sensibilidad que las técnicas existentes para las diferentes clases de carbapenemasas descritas (clase A, B y D)

El fundamento consiste en la incubación de un inóculo calibrado de la cepa en evaluación con un disco de meropenem 10 ug en un caldo tripticasa soya. Este contacto lleva a la cepa a producir carbapenemasas para bloquear la acción de antimicrobiano e inactivarlo. Al encontrarse inactivo, el disco pierde la capacidad de inhibir el crecimiento de una cepa que sea sensible (*E. coli* ATCC25922) mediante la difusión en agar, lo que permitirá el crecimiento.

Una nueva modificación a la técnica permite evidenciar si la carbapenemasa producida es de tipo metalo-betalactamasa, mediante la adición de EDTA 5mM al medio. Si la cepa produce enzimas de este tipo, la acción del EDTA bloqueará la acción de la enzima mediante su poder de quelar los iones metálicos (cofactor necesario para la actividad de estas enzimas) por lo cual el disco no se inactivará y al contacto con la cepa sensible mantendrá su capacidad de inhibir el crecimiento.

Un correcto análisis de los resultados de estas pruebas permite no solo evidenciar si la cepa es o no productora de carbapenemasas, sino además si estas son de clase metalo-betalactamasas.

Las técnica inicialmente se validó solo para Enterobacterias y en la actualidad se realizó una validación para *Pseudomonas aeruginosa* con el ajuste del inóculo. En otros BGN diferentes a los mencionados no está validada la técnica.

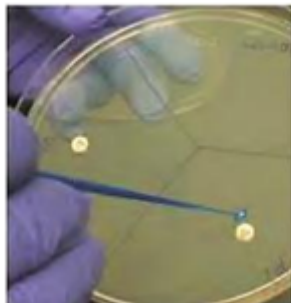
Reactivos y materiales:

- Caldo tripticasa soya (TSB) en alícuotas de 2 ml
- Caldo tripticasa soya (TSB) o solución salina para suspensión de McFarland
- Discos de meropenem
- Asas de inoculación de 1 µl y 10 µl
- Placas de agar Mueller Hinton
- Cepa ATCC E. Coli 25922

Procedimiento:

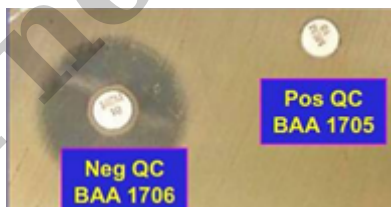
1. Tomar con asa calibrada 1uL de la cepa en estudio (10 uL si es *Pseudomonas aeruginosa*) de un cultivo fresco de un agar no selectivo y llevarla a 2 ml de caldo tripticasa soya.
2. Agregar un disco de meropenem 10ug al caldo e incubar 4 horas a 35°C en aerobiosis
3. En un agar Muller-Hinton realizar una siembra masiva de *E. coli* ATCC 25922 ajustada a 0.5 McFarland y dejar secar de 3 a 5 minutos

4. Colocar el disco sacado del caldo (retirar a lo máximo el exceso del líquido ya que allí se encuentra una gran cantidad de la cepa en estudio. Es posible en una misma placa de agar probar hasta 4 discos (4 cepas)
5. Incubar 18-24 horas (overnight) a 35°C
6. Realizar lectura del halo de inhibición



Interpretación:

- **Carbapenemasa negativa:** Un Halo mayor a 19 mm, indicará actividad inhibitoria del disco de meropenem, lo que resultará en un reporte **NEGATIVO** para la prueba
- **Carbapenemasa positiva:** Un Halo menor a 15 mm, indicara inactivación del disco de meropenem y por lo tanto se generará un reporte **POSITIVO** para la prueba
- **Indeterminado:** Zona de 16-18 m.



MODIFICACIÓN CON EDTA

Para la determinación de una metalo-betalactamasa mediante esta técnica, se debe agregar EDTA a una concentración 5mM, es decir agregar 20 uL de EDTa 0.5M. Esta prueba se puede realizar en paralelo o después de haber realizado la técnica sin EDTA ya que es necesaria la correlación de los dos resultados para un correcto análisis y reporte. Los resultados de esta prueba no se deben analizar de manera independiente o única sin la prueba de inactivación ya que la interpretación podría ser errónea

INTERPRETACIÓN (en base a un resultado **POSITIVO** de inhibición de carbapenems)

- Un Halo menor a 15 mm, indicara inactivación del disco sin afectarse el proceso por efecto del EDTA lo que resulta en un reporte **NEGATIVO para metalo-betalactamasas (POSITIVO PARA INACTIVACION DE CARPAPENEM)**
- Un Halo entre 16 y 18 mm, indicará un resultado indeterminado

- Un Halo mayor a 19 mm, indicará actividad inhibitoria del disco de meropenem que no pudo ser inactivado debido a que el EDTA bloqueo el efecto de las metalo-betalactamasas por lo que el resultado será **POSITIVO para metalo-betalactamasas (y POSITIVO PARA INACTIVACION DE CARBAPENEM)**

Para tener en cuenta:

- Un anillo estrecho de crecimiento alrededor del disco de meropenem resulta de la transferencia del microorganismo de ensayo en el caldo TSB y debe ser ignorado



Control de la prueba

Control Positivo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 1705

Control Negativo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 1706

3. CARBA NP

Confirma presencia de bacterias productoras de carrbapenemasa. La prueba da resultados fiables en menos de 2 horas.

Aunque se puede realizar para Enterobacterias como para no fermentadores, se estandariza que se realiza obligatoriamente en *Pseudomonas* y *Acinetobacter* o en caso de requerir confirmación prioritaria en una *Enterobacteriaceae*

MATERIALES

Panel CARBA NP

Medio de suspension

Puntas amarillas

Pipetas de 10 - 100 ul

Mezcladores

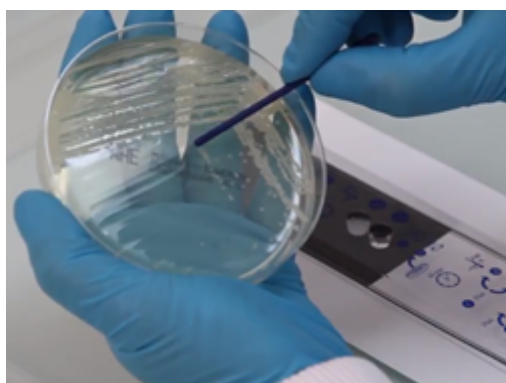
PROCEDIMIENTO

1. Abra con cuidado el panel y colóquelo sobre la plantilla, de tal manera que el sitio destinado para el marcaje quede sobre la parte blanca de la misma. Marque en la parte de abajo el panel con el labcore del paciente.
2. Rompa el vial del medio de suspensión con mucho cuidado. Tome 100 μl y añada a cada uno de los pocillos a, b y c. Tape el panel con la tapa que viene junto con el panel. dejar entre 4 y 10 minutos a una temperatura aproximadamente de 15-25 $^{\circ}\text{C}$.



3. Mezclar el contenido del pozo "B"

4. Añadir una buena cantidad de la cepa a estudiar al pozo C y mezclar hasta que se obtenga una turbidez equivalente al pozo B. (Tenga la cepa en estudio con crecimiento de 18 a 24 horas sobre agar sangre o Mueller Hinton. No se debe realizar la prueba de cepas crecidas en agar MacConkey o CLED)



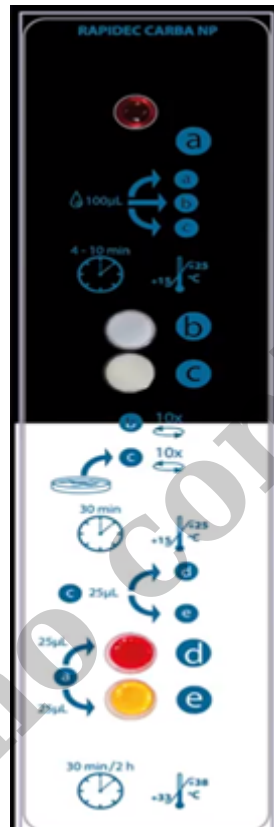
5. Mezcle muy bien, tape nuevamente y deje reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos

6. Trasladar 25 μl del pozo C al pozo D y 25 μl del pozo C al pozo E.

7. Trasladar 25 µl del pozo A al pozo D y 25 µl del pozo A al pozo E. Incubar a 37 °C por 30 minutos. Si al cabo de los 30 minutos no se observa cambio de color en el pocillo “e”, dejar en incubación hasta un máximo de 2 horas, tiempo en el cual si no hay cambio de color se leerá la prueba como negativa.

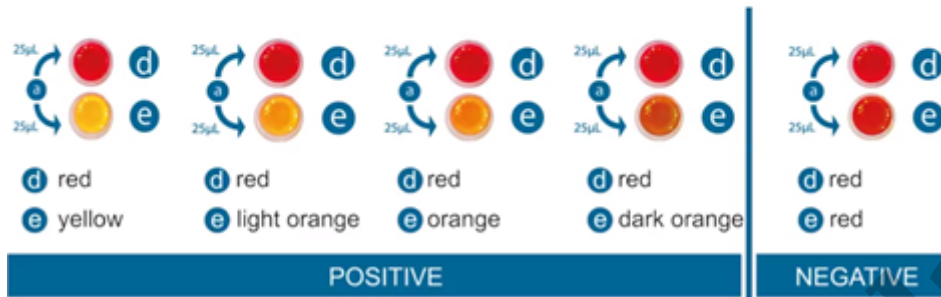
Interpretación:

- La lectura se realiza comparando los colores de los pozos D y E.



- El test es positivo cuando se observa una variación significativa en el color entre los dos pozos, para una interpretación correcta, consulte la siguiente tabla.

Control well d	Test well e	Interpretation
red	red	Negative
orange	orange	
red	yellow, light orange, orange, dark orange	Positive
orange	yellow	
any color other than red or orange	Not applicable	Uninterpretable
orange	red	



Control de la prueba

Control Positivo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 1705

Control Negativo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 1706

4. TEST EDTA PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS TIPO METALOBETALACTAMASAS:

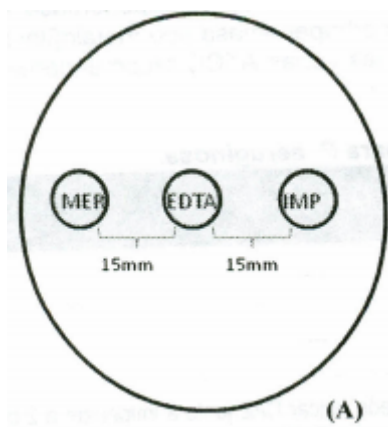
FUNDAMENTO: Si se detecta alguna cepa resistente o con susceptibilidad intermedia a los carbapenémicos, además de las pruebas descritas anteriormente, se deben realizar pruebas que orienten hacia la clase de carbapenemasa observada.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar una suspensión 0.5 de MacFarland de la cepa en cuestión.
2. Hacer siembra masiva sobre agar Mueller Hinton
3. Colocar los discos de Meropenem, EDTA e imipenem en ese orden, separados entre sí 15 mm

INTERPRETACION:

Si llegase a haber sinergia o deformación del halo de los antibióticos hacia el EDTA se puede considerar como una prueba positiva, la cual se puede interpretar como una metalobetalactamasa.



Control de la prueba

Control Positivo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 2146

Control Negativo *Escherichia coli* ATCC 25922

5. TEST DE ÁCIDO BORONICO:

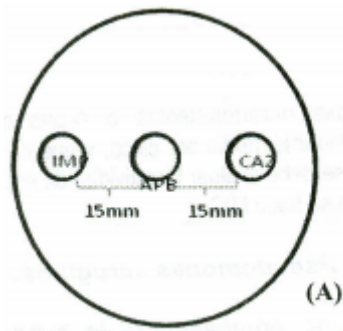
FUNDAMENTO: Si se detecta alguna cepa resistente o con susceptibilidad intermedia a los carbapenémicos, además de las pruebas descritas anteriormente, se deben realizar pruebas que orienten hacia la clase de carbapenemasa observada.

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar una suspensión 0.5 de MacFarland de la cepa en cuestión.
2. Hacer siembra masiva sobre agar Mueller Hinton
3. Colocar los discos de Imipenem, Ácido fenil borónico (APB) y ceftazidime en ese orden, separados entre sí 15 mm

INTERPRETACION:

Si llegase a haber sinergia o deformación del halo de los antibióticos hacia el APB se puede considerar como una prueba positiva, la cual se puede interpretar como una carbapenemasa tipo KPC.



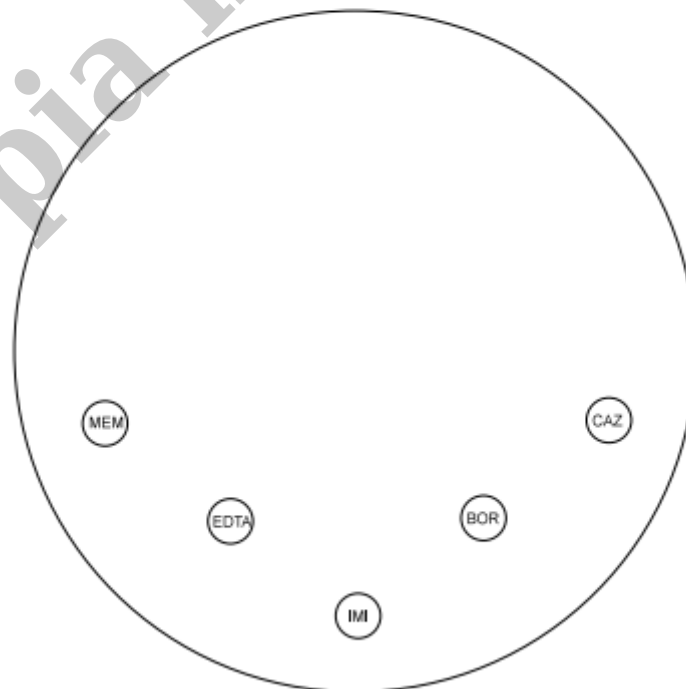
Control de la prueba

Control Positivo *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA 1705

Control Negativo *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

Debido a que las pruebas EDTA y ÁCIDO BORÓNICO se pueden realizar en la misma caja, se debe tener en cuenta el siguiente esquema:

ÁCIDO BORÓNICO / EDTA



6. OXIDASA:

FUNDAMENTO: Detecta la presencia de la Citocromo C oxidasa.

PROCEDIMIENTO: En un papel filtro, colocar una gota del reactivo. Con un palillo, tomar la colonia fresca de agar sangre o mueller hinton y hacer una línea sobre el papel filtro previamente impregnado con el reactivo. Un cambio de color a azul o morado durante los siguientes 10 segundos indica una prueba positiva.

Control de la prueba

Control positivo *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Control Negativo *Escherichia coli* ATCC 25922

PRUEBAS MANUALES PARA LEVADURAS

1. TUBO GERMINAL:

FUNDAMENTO:

Es una prueba útil para diferenciar *C. albicans*/*C. dubliniensis* de *Cándida* no *albicans*. El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento (constricción) en su sitio de unión con la blastoconidia, que da lugar a hifas verdaderas. Sólo *C. albicans*/*C. dubliniensis* son capaces de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas de aspecto similar a los tubos germinales pero con blastoconidias más grandes que las de *C. albicans*

PROCEDIMIENTO:

Se realiza a partir de una colonia fresca (24-48 horas de crecimiento) utilizando plasma fresco o suero humano con glucosa, el cual se incuba a 37°C por máximo 3 horas. Para considerar una prueba como positiva se deben observar más de 5 tubos germinales. Esta es una prueba presuntiva ya que no todos los aislamientos de *C. albicans* son tubo germinal positivo y también se presentan falsos negativos.

Control de la prueba

Control positivo *Candida albicans* ATCC 14053

Control negativo *Candida parapsilosis* ATCC 22019

NOTAS DE VALIDACIÓN

UROCULTIVOS

Preliminares:

- Bacilos gram negativos en proceso de incubación. Recuento de colonias > 100.000 UFC/ml o el Recuento obtenido
- Cocos gram positivos en proceso de incubación. Recuento de colonias > 100.000 UFC/ml o el Recuento obtenido
- Bacilos gram negativos en proceso de identificación y prueba de susceptibilidad. Recuento de colonias > 100.000 UFC/ml o el Recuento obtenido
- Cocos gram positivos en proceso de identificación y prueba de susceptibilidad. Recuento de colonias > 100.000 UFC/ml o el Recuento obtenido

Resultados negativos finales:

- N48: Negativo a las 48 horas de incubación

Casos especiales urocultivos:

- **Urocultivos contaminados, en los que se observen más de dos microorganismos:**
“Múltiples morfotipos bacterianos presentes. Probable contaminación. Si existe indicación clínica, repetir siguiendo estrictamente las recomendaciones de higiene y de obtención de la muestra”
- **Urocultivo negativo con parcial de orina positivo, paciente tomando antibiótico:** NDI: NEGATIVO A LAS 48 HORAS DE INCUBACIÓN. ADVERTENCIA: EL PACIENTE SE ENCUENTRA TOMANDO ANTIBIOTICOS, POR LO TANTO UN RESULTADO NEGATIVO NO DESCARTA INFECCION.
- **POP:** SE SUGIERE INTERPRETAR RESULTADO CON CAUTELA, TENIENDO EN CUENTA QUE EL SEDIMENTO PRESENTA MENOR SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD QUE EL CULTIVO DE ORINA.

Resultado positivo final:

Informar el (los) microorganismos aislados indicando las MIC obtenidas y el recuento observado en el cultivo.

GERMENES COMUNES

Preliminares:

- Bacilos gram negativos en proceso de incubación. Crecimiento escaso, moderado, abundante
- Cocos gram positivos en proceso de incubación. Crecimiento escaso, moderado, abundante
- Bacilos gram negativos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad. Crecimiento escaso, moderado, abundante
- Cocos gram positivos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad. Crecimiento escaso, moderado, abundante

- En cultivos de punta de catéter informar UFC > 0 < a 15/ml
- Secreciones respiratorias informo UFC teniendo en cuenta la dilución usada

Resultados negativos finales:

Secreciones nasales, faríngeas, óticas, vaginales, esputo:

- N48: Negativo a las 48 horas de incubación
- CN: Crecimiento de microbiota normal

Líquidos corporales diferentes a líquido peritoneal, secreciones oculares, catéter, líquido prostático:

- N72: Negativo a las 72 horas de incubación

Secreción uretral, secreción orotraqueal, líquido seminal:

- N72: Negativo a las 72 horas de incubación
- CN: Crecimiento de microbiota normal.

Tamizaje para quinolonas:

- Se debe informar la sensibilidad o resistencia a ciprofloxacina, ácido nalidixico y levofloxacina de la Escherichia coli identificada.

Tamizaje rectal para microorganismos multiresistentes

Resultado Negativo:

- Cuando no se obtiene crecimiento en agar CARBA: Negativo para microorganismos productores de carbapenemasas.
- Cuando no se obtiene crecimiento en agar BLEE: Negativo para microorganismos productores de betalactamasas.
- Cuando no se obtiene crecimiento en agar VRE: Negativo para microorganismos resistentes a vancomicina.

Resultado Positivo:

- Informar "Positivo para" microorganismos aislados que son resistentes según el mecanismo de resistencia evaluado. Si los otros medios son negativos, informarlos como se especificó anteriormente.

Tamizaje para Staphylococcus aureus meticilinoresistentes:

- **Negativo:** Negativo para Staphylococcus aureus meticilinoresistente
- **Positivo:** Se aisló Staphylococcus aureus meticilinoresistente.

HEMOCULTIVOS

Preliminares:

- Negativo al día 1 de incubación al día 4.
- Bacilos gram negativos en proceso de incubación.
- Cocos gram positivos en proceso de incubación.
- Bacilos gram negativos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad.
- Cocos gram positivos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad.

Resultados negativos finales:

N5D: Negativo a los 5 días de incubación. PARA GERMENES COMUNES

N14D: Negativo a los 14 días de incubación. PARA HONGOS

Resultado positivo final:

Informar el (los) microorganismos aislados indicando las MIC obtenidas

Tamizaje vaginorectal para *Streptococcus agalactiae*:

- Negativo para *Streptococcus agalactiae* (Grupo B)
- Se aísla *Streptococcus agalactiae*. Reportar antibiograma

LIQUIDOS PERITONEAL (RTS)

Preliminares:

- Negativo al día 1 de incubación al día 6.
- Bacilos gram negativos en proceso de incubación.
- Cocos gram positivos en proceso de incubación.
- Bacilos gram negativos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad.
- Cocos gram positivos en proceso de identificación y pruebas de susceptibilidad.

Resultados negativos finales:

N7D: Negativo a los 7 días de incubación.

Resultado positivo final:

Informar el (los) microorganismos aislados indicando las MIC obtenidas

COPROCULTIVO

- NESS: Negativo para enteropatógenos tipo salmonella y shigella spp.
- Si se aísla *Salmonella* o *Shigella* se reporta con el antibiograma. En caso de aislar *Escherichia coli* sorbitol negativo se debe enviar cepa al laboratorio de salud pública para la confirmación

de la misma.

- En casos en los que se observe crecimiento único de gram positivo o levadura se debe identificar y reportar. Colocar en estos casos la nota: No se obtiene crecimiento de enterobacterias.

CULTIVO DE HONGOS

Reporte final:

- N4S: Negativo a las 4 semanas de incubación.

NOTAS PARA EL GRAM

- Respuesta leucocitaria abundante sin observación de Bacterias: Se sugiere interpretar con cautela, debido a que la coloración de gram es menos específica que el cultivo

NOTAS GENERALES ADICIONALES

- CH: Se sugiere correlacionar con historia clínica
- DCO: Dato confirmado
- RCM: Resultado confirmado en muestras tomadas en día diferente

REGLAS DE SUPRESIÓN



GRAM POSITIVOS

1. ***Staphylococcus aureus***

- **OXACILINA SENSIBLE.**

No reportar: Ciprofloxacina, Gentamicina, Vancomicina, Levofloxacina

Reportar siempre: Penicilina, Oxacilina, Clindamicina, Eritromicina Trimetoprim-sulfa, Nitrofurantoina (en orina), Tetraciclina, Amoxicilina ácido clavulánico.

En Unidades renales reportar siempre vancomicina independiente de la resistencia o sensibilidad a oxacilina

Pie de nota:

La sensibilidad de *Staphylococcus* a la oxacilina predice de igual forma sensibilidad a cefalosporinas de primera y segunda generación y puede tratarse con cualquier betalactámico, sin embargo es preferible el uso de penicilinas antiestafilocóccicas como oxacilina y/o dicloxacilina. No se recomienda el uso de vancomicina excepto en pacientes con alergia severa.

- **OXACILINA RESISTENTE**

Reportar siempre: Vancomicina, Trimetoprim/sulfa, Clindamicina, Tetraciclina, Gentamicina, Ciprofloxacina o Levofloxacina.

Pie de nota: La resistencia a la oxacilina en el *Staphylococcus aureus* predice de igual forma resistencia a todos los betalactámicos e inhibidores de betalactamasas y carbapenem. No es recomendable el uso de ninguno de ellos.

Si presenta resistencia a Oxacilina y clindamicina, oxacilina y eritromicina, oxacilina y tetraciclina, oxacilina tetraciclina y eritromicina, es un posible clon de la comunidad

Pie de nota: El laboratorio de microbiología recomienda consultar resultado del perfil con infectología y epidemiología (Posible clon de la comunidad CA-MRSA)

- **VANCOMICINA CON MIC PARA VANCOMICINA MAYOR O IGUAL A 2:**

Pie de nota: Se sugiere evaluar la respuesta terapéutica a vancomicina a las 72 horas del tratamiento y realizar niveles de vancomicina cuando se considere adecuado.

- **VANCOMICINA RESISTENTE**

Se debe confirmar la resistencia.

Pie de nota: Resultado de vancomicina confirmado. El laboratorio de microbiología recomienda consultar resultado del perfil con infectología y epidemiología.

- **CLINDAMICINA SENSIBLE CON ERITROMICINA INTERMEDIO O RESISTENTE:**

Realizar el test D automatizado o manual. En caso de resultado positivo, reportar clindamicina resistente. Se coloca el **pie de nota:** No se recomienda el uso de clindamicina en infecciones severas por resistencia inducible.

En caso de que el resultado sea negativo, se reporta clindamicina sensible.

1. **Staphylococcus saprophyticus en orina:**

Pie de nota: *Staphylococcus saprophyticus* se inhibe con las concentraciones alcanzadas en orina de todos los antibióticos, excepto fosfomicina.

1. ***Enterococcus faecalis***

A. En orina: No reportar otros antibióticos cuando es ampicilina sensible.

Pie de nota: Para *Enterococcus faecalis* aislados en orina, la ampicilina es el tratamiento de elección.

A. En líquidos estériles reportar ampicilina y gentamicina si la ampicilina es sensible. Reportar vancomicina, gentamicina y linezolid si la ampicilina es resistente.

1. ***Enterococcus faecium***, Debe considerarse resistente a ampicilina aunque sea sensible invitro. Reportar siempre Vancomicina.

En infecciones sistémicas: Pie de nota: Se sugiere evitar el uso de ampicilina en aislamientos de *Enterococcus faecium* en infecciones sistémicas, vancomicina es el tratamiento de elección.

1. ***Enterococcus gallinarum*:**

Pie de nota: Este microorganismo posee resistencia intrínseca a vancomicina, consultar los resultados con epidemiología e infectología.

1. ***Streptococcus spp. Sensibles a penicilina***

Pie de nota: Los *Streptococcus* sensibles a la penicilina pueden ser considerados sensibles a ampicilina, amoxicilina, inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, así como a carbapenémicos.

1. ***Streptococcus agalactiae*:** Es sensible a los antibióticos betalactámicos (PenicilinaG, Ampicilina, Cefalosporinas). En personas alérgicas se realiza antibiograma tamizando eritromicina, clindamicina y vancomicina. La eritromicina no debe reportarse en mujeres embarazadas bajo ninguna circunstancia y solo se utiliza para tamización in vitro.

GRAM NEGATIVOS

A. EN ORINA DE CONSULTA EXTERNA:

Reportar siempre: Ciprofloxacina, Norfloxacina, Acido nalidixico (solo pediátricos), Trimetoprim sulfa, Nitrofurantoina, Cefalotina, Cefalosporinas de 3a. Generación.

B. ORINAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS (INFECCIÓN COMPLICADA):

Reportar siempre: Ciprofloxacina o Levofloxacina, Cefalosporinas de 2a y 3a generación, Aztreonam, Amikacina, Cefepime, Piperacilina/tazobactam, Ertapenem

Si son resistentes a los anteriores reportar: Meropenem, Imipenem,

1. RESISTENCIA A CIPROFLOXACINA:

En casos en los que ciprofloxacina sea resistente, se debe cambiar norfloxacina a resistente.

Si es al revés, (Ciprofloxacina sensible y norfloxacina resistente) No cambiar la interpretación.

1. GRAM NEGATIVOS PRODUCTORES DE BETALACTAMASA (BLEEs) (Klebsiella, Escherichia coli, Proteus mirabilis)

Si se observa resistencia al menos a una cefalosporina de tercera generación es posible que exista una BLEE, por lo que se debe tamizar. En caso de confirmar la presencia de betalactamasas de espectro extendido, se recomienda editar a resistente el resultado de las cefalosporinas. Suprimir del reporte Piperacilina/tazobactam, Cefepime.

Pie de nota:

Este microorganismo posee betalactamasa de espectro extendido, no se recomienda el uso de cefalosporinas, aztreonam ni de inhibidores de betalactamasas.

□

1. **Stenotrophomona maltophilia:** Resistente natural a penicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cafamicinas, gentamicina e imipenem. Reportar siempre Trimethoprim/sulfa, ceftazidime, levofloxacina.

Pie de nota: Microorganismo con multiresistencia natural. Se sugiere el uso de Trimethoprim/sulfa como base del tratamiento.

1. **MICROORGANISMOS AMPC: Aeromonas, Morganella, Providencia, Citrobacter, Edwarsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus vulgaris, Pantoea, Hafnia alvei.**

No reportar: Cefalosporinas de 3a generación. No hidrolizan Cefepime

□

Pie de nota:

Este microorganismo posee una Betalactamasa inducible (AmpC), no se recomienda el uso de cefalosporinas de tercera generación ni Aztreonam.

1. **Pseudomonas aeruginosa:** Siempre reportar Ceftazidime, Cefoperazona/sulbactam, Cefepime, Piperacilina/tazobactam, Aztreonam, Amikacina, Ciprofloxacina, Meropenem e Imipenem.

- Resistente a carbapenems (Meropenem y/o doripenem), pit/tazo y cefepime:

Pie de nota: Aislamiento multiresistente. Se sugiere terapia combinada, aislamiento de contacto e interconsulta con infectología.

- Resistente a todos los antibióticos:

Pie de nota: Aislamiento pan-resistente. Se sugiere terapia combinada, aislamiento de contacto e interconsulta con infectología.

1. **Enterobacterias resistentes a carbapenems, con test de carbapenemasas (Hodge, edta, borónico o carba np) positivos:** Resultados consistentes con la producción de carbapenemasas. Se sugiere aislamiento de contacto del paciente, terapia combinada e interconsulta con infectología.

1. **Enterobacterias resistentes a carbapenems, con test de carbapenemasas (Hodge, edta, borónico o carba np) negativos:** Este microorganismo posee resistencia a carbapenémicos. No se descarta la producción de carbapenemasas. Se sugiere aislamiento de contacto del paciente, terapia combinada e interconsulta con infectología.

1. **Burkholderia cepacia:** Reportar únicamente meropenem, ceftazidima, trimetoprim/sulfa, levofloxacina.

1. **Acinetobacter baumannii:** Si está resistente a ampicilina sulbactam y carbapenems con sensibilidad a tigeciclina y colistina se coloca el siguiente pie de nota

Pie de nota: Acinetobacter baumannii muti-resistente. Se sugiere aislamiento de contacto e interconsulta con infectología.

1. **Salmonella y Shigella:** En coprocultivos en los que se aísla *Salmonella* o *Shigella* reportar ampicilina, ciprofloxacina y trimethoprim/sulfa. Se puede adicionar el reporte de ceftriaxona en caso de pacientes inmunosuprimidos. En *Salmonella* o *Shigella* en aislamientos invasivos, se debe reportar ampicilina, ciprofloxacina, trimethoprim/sulfa, ceftriaxona y opcionalmente chloramphenicol.
2. **Colistin:** Se suprime la nota de colistin de todas las cepas con resultado por Vitek sensible, y se reportará únicamente en el caso en que el médico lo requiera de la siguiente manera: "No resistente a colistin" y con pie de nota: "El colistin debe ser administrado con una dosis de carga a las dosis máximas recomendada y en combinación con otros agentes". Las cepas resistentes a carbapenémicos con resistencia a colistina, se puede liberar el resultado con el pie de nota: "Este microorganismo posee resistencia a colistin, se recomienda aislamiento de contacto e interconsulta con infectología"

□

3. OTRAS ANOTACIONES

- Una Enterobacteriacea resistente a Cefepime o a Pip/tazobactam y sensible a Imipenem o Meropenem, deberá ser tamizada para Ertapenem antes de llamarla sensible.
- En *Proteus spp.*, *Morganellaspp.*, y *Providencia spp.*, se pueden presentar CIM elevadas a imipenem por otros mecanismos que no son la producción de carbapenemasas, la utilidad de tamizaje del CIM de Imipenem no está establecido para estos tres géneros.
- En casos de *Salmonella*, solo las tifoideas requieren tratamiento y se deben serotipificar. Se debe realizar ciprofloxacina en disco, donde el halo debe ser mayor a 31 mm. No se debe informar con el resultado del equipo ya que la MIC debe ser menor o igual a 0.06, rango que no poseen los paneles.
- No reportar tigeciclina en infecciones urinarias ya que no alcanza niveles terapéuticos adecuados y puede llevar a selección de resistencia a este antibiótico.
- No reportar nitrofurantoína en infecciones urinarias causadas por las siguientes especies: *Morganella*, *Proteus*, *Providencia* y *Serratia*, porque son intrínsecamente resistentes.
- En casos de observar *Staphylococcus aureus* resistentes a oxacilina y sensibles a cefoxitin, confirmar la pureza de la colonia, y repetir el antibiograma. En caso de que el hallazgo persista reportar como oxacilina resistente.
- En caso de observar *Streptococcus* beta hemolíticos resistentes a betalactámicos, daptomicina, linezolid o vancomicina, revisar la pureza de la colonia y repetir el antibiograma.
- En caso de encontrar Enterobacterias resistentes a carbapenémicos pero sensibles a cefalosporinas, se debe repetir el montaje verificando la pureza del cultivo. De igual manera si se observa resistencia a las cefalosporinas de tercera generación pero sensibilidad a las de

primera y segunda generación.

CONTROL DE CALIDAD AREA DE MICROBIOLOGIA

CONTROL DE CALIDAD DEL BOMBILLO DEL MICROSCOPIO

Para garantizar el buen funcionamiento del bombillo del microscopio, es importante que en el formato de registro de limpieza desinfección de equipos, dispositivos y utensilios que se diligencia para el microscopio, en la casilla de observaciones se registre el tiempo total de uso del microscopio de cada día, así como la frase: "Bombillo funcionando correctamente". Esto es importante ya que desde que es instalado un bombillo halógeno, éste tiene una vida útil de aproximadamente 2000 horas, por lo que si al hacer el conteo de dichas horas el uso se encuentra cercano a este valor, se debe realizar solicitud al área de equipos médicos de un bombillo nuevo.

CONTROL DE TEMPERATURA DE INCUBACIÓN

De acuerdo a la temperatura de incubación necesaria para los diferentes microorganismos, en el formato de registro de temperatura de cada una de las incubadoras es necesario mantener dicho control mediante rangos previamente establecidos. Dichos rangos son:

- * Incubadora para urocultivos y gérmenes comunes: De 32°C a 37°C
- * Incubadora para micobacterias: De 36°C a 38°C
- * Incubadora para hongos: De 20°C a 25°C

CONTROL DE CALIDAD EQUIPO VITEK 2XL Y VITEK COMPACT

En las sedes de Bucaramanga, Cali, Clínica Nueva Lago y Pereira, el control de calidad de los equipos de Biomerieux se debe realizar mensualmente, dentro de los primeros 10 días del mes. En la sede Lago se debe realizar quincenalmente, montando las tarjetas que se mencionan en la columna de la izquierda, con la cepa ATCC de la columna de la derecha. Tener en cuenta que en los casos de las tarjetas de sensibilidad, no es necesario realizar la identificación, y en los casos de la identificación no es necesario realizar la tarjeta de sensibilidad. Para las identificaciones de GN y GP, se puede montar cualquiera de las dos cepas. La tarjeta NH debido a su baja utilización, se controlará una vez al mes. La tarjeta YS07 solo se controlará en los casos en que se pida alguna prueba de sensibilidad de levaduras. Registrar los resultados en el formato de concordancia control de calidad interno microbiología Vitek.

TARJETA	CEPA ATCC
GN	<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 700323
GN	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC 17666
GP	<i>Enterococcus casseliflavus</i> ATCC 700327
GP	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC BAA 750
YST	<i>Candida albicans</i> ATCC 14053
NH	<i>Eikenella corrodens</i>

AST GN93	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
AST 271	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
AST 272	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
AST P612	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
AST P577	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213
AST ST01	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619
AST YS07	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019

Copia no controlada

Adicionalmente, para garantizar la calidad de los reportes generados en el equipo VITEK, se deben realizar los siguientes controles:

1. Control de esterilidad de la solución salina: Para esto, se debe inocular diariamente 3 ml de solución salina que se utiliza para la realización de los inóculos en BHI, incubar el BHI toda la noche y al día siguiente revisar que el medio no esté turbio. Si no se observa turbidez en el medio se puede seguir utilizando con tranquilidad la solución salina. Registrar en la lista de chequeo del equipo.

2. Control de esterilización del dispensador o Brinckmann: La esterilización del dispensador de solución salina, se debe realizar cumpliendo los parámetros de esterilización a 121° y 15 psi por 20 minutos. Se debe realizar una vez por semana o cuando el control de la solución salina esté

turbio. Registrar en la lista de chequeo del equipo. Para la Clínica Nueva Lago, se debe enviar el dispensador a la sede Lago en donde se realiza el procedimiento y se retorna el equipo.

3. Control de calidad del densicheck: Semanalmente se debe verificar la lectura del densicheck, lo que garantiza que los inóculos realizados si correspondan a lo que se requiere para una correcta identificación del microorganismo. En el formato indicado se debe anotar el valor obtenido para cada estándar en la casilla correspondiente. Tener en cuenta los valores de referencia de cada uno de los estándares a medir

CONTROL DE CALIDAD EQUIPO BACT ALERT

El control de calidad de los equipos de Biomerieux se debe realizar mensualmente, dentro de los primeros 5 días del mes. Para realizarlo se debe seguir el siguiente procedimiento:

- Realizar dilución 0.5 de MacFarland de 2 cepas puras (Una gram positiva y otra gram negativa) de crecimiento en agar no mayor a 24 horas.
- Realizar dilución #1 con 20 µl del inóculo 0.5 realizado + 1.98 ml de caldo nutritivo.
- Realizar dilución #2 con 20 µl de dilución 1 + 1.98 ml de caldo nutritivo.
- Realizar dilución #3 con 200 µl de dilución 2 + 1.8 ml de caldo nutritivo.
- Inocular 0.4 ml de la dilución # 3 si es una botella de adulto o anaerobia y 0.2 ml si es una botella pediátrica.
- El crecimiento se debe detectar dentro de las 48 a 72 horas siguientes.
- Como control negativo se debe incubar una botella mensualmente sin adicionarle nada.

CONTROL DE CALIDAD PARA EL MANTENIMIENTO DE LAS CEPAS ATCC

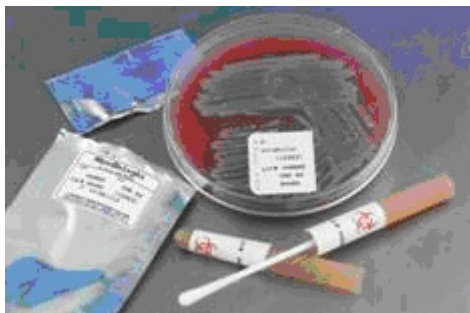
FUNDAMENTO:

Las cepas ATCC provienen de un único subcultivo y su control de calidad idealmente debe ser realizado por una única persona con el fin de mantener la trazabilidad del proceso, cada una deberá estar completamente identificada con el tipo de microorganismo al que pertenece, su procedencia y la fecha de congelación. Las cepas identificadas de reserva, por ningún motivo deben volverse a congelar.

Su utilidad o periodo de vida media, dependen enteramente de su preservación y mantenimiento, de esta manera, lo ideal es mantenerlas en congelación o quienes cuentan con la posibilidad de liofilizarlas garantizan el mantenimiento de la cepa de manera indefinida a través del tiempo; En general, la preservación debe realizarse a temperaturas de -70°C para que tengan una vida útil de 4 a 6 años y en las neveras corrientes de -20°C su vida útil logra alcanzar de los 24 a los 48 meses.

CLASIFICACIÓN CEPAS ATCC

Cepas de Referencia. Son distribuidas y presentadas comercialmente liofilizadas; los organismos de acreditación son los encargados de considerar válida la fuente de procedencia de la cepa a fin de que se cumpla con el requisito de prevenir mutaciones, deterioro o alteración de las características típicas de las cepas.



Cepas de Reserva. Son cepas idénticas logradas mediante un único subcultivo de una cepa de referencia.

Son preparadas y conservadas en el laboratorio, dentro del cual se destina un lugar para su almacenaje, se trata de cepas potencialmente peligrosas y cuya manipulación queda exclusivamente restringida al personal autorizado. Cada Vial debe estar perfectamente identificado con el nombre de la cepa, procedencia y fecha de congelación



Cepas de Trabajo Se obtienen por subcultivo de las Cepas de Reserva se subcultivan en medios sólidos de enriquecimiento apropiados para cada microorganismo se debe verificar la calidad, pureza y morfología típica del subcultivo nunca subcultivarlas para sustituir a las cepas de Reserva.



El sistema de criopreservación utilizado en IDIME es el **Sistema Protect**

Principio del sistema Protect: sistema basado en la habilidad de los microorganismos para sobrevivir en una solución de glicerol bajo condiciones criogenicas: Los viales protect contienen una solución nutritiva con un componente crioprotector los cuales previenen el daño celular durante la congelación y descongelación. La estructura porosa de las perlas de cerámica protect ofrece una gran superficie permitiendo una alta capacidad de absorción para los microorganismos. Protect ofrece varias formulaciones del medio crioprotector diseñadas para grupos particulares de microorganismos o aplicaciones específicas

Contenido: Protect viene como un vial estéril que contiene las perlas de cerámica en un caldo de glicerol como medio criopreservativo

Instrucciones de uso:

a) Preparación del cultivo (cepas de reserva)

1. Con un asa redonda estéril tome una muestra de colonia del medio de cultivo que contiene la cepa de referencia, la cual previamente ha sido reconstituída en el vial correspondiente y sembrada con el escobillón en agar no selectivo.
2. Haga una suspensión de microorganismos en el interior del vial de Protect
3. En cultivos líquidos se recomienda centrifugar para obtener una concentración de microorganismos suficiente para ser utilizado al hacer la suspensión en el fluido criopreservativo. Para mejores resultados utilice un cultivo fresco (18-24h)
4. Tape el vial e invierta 6 veces, dejelo en posición vertical por lo menos 30 segundos
5. Retire la mayor cantidad de líquido posible utilizando una pipeta o un asa redonda estéril
6. Tape, escriba los datos necesarios en el vial y almacene en el congelador a -20°C o a la temperatura recomendada para el microorganismo específico. La remoción de las perlas individuales será más fácil si el vial es puesto en posición horizontal en el congelador durante los primeros minutos

b) Recuperación del cultivo

1. Retire el vial protect del congelador. Utilice un criobloque (pila) que haya sido almacenado en un congelador por lo menos 30 minutos para extender el tiempo disponible para trabajar con el vial congelado
2. Retire la perla utilizando un asa recta (Introduciéndola en el orificio de la perla)
3. Siembre directamente en el medio de cultivo o introduzca la perla en un caldo e incube
4. Las perlas retiradas no deben retornarse al vial
5. La recuperación puede ser mejorada en el caso de algunos microorganismos fastidiosos si la perla es puesta en medio líquido e incubada antes de ser sub cultivada en el medio agar.

c) Precauciones de almacenamiento y vida media

1. Protect debe ser utilizado para uso in- vitro únicamente
2. La temperatura de almacenamiento puede afectar las características de crecimiento y la viabilidad de los microorganismos
3. Protect no debe ser utilizado en cualquiera de las siguientes condiciones:
 - Alguna evidencia de daño o rompimiento del vial
 - Turbidez en el fluido criopreservativo sugiere una posible contaminación
4. Utilice una técnica aséptica durante el procedimiento de preparación y recuperación de los microorganismos
5. Tome las precauciones de bioseguridad cuando deseche el material infectado

d) Condiciones de almacenamiento y vida media

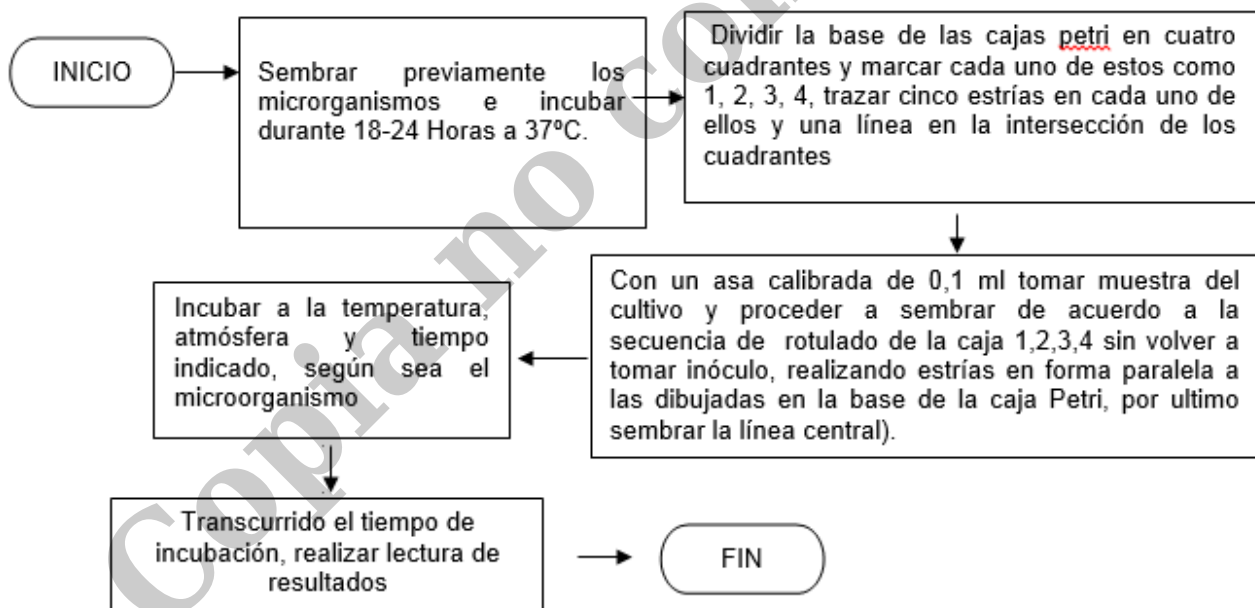
Sin abrir, los viales de Protect pueden ser almacenados entre 4 y 25°C en un área seca y protegida de la luz, el calor y el polvo, en el empaque original.

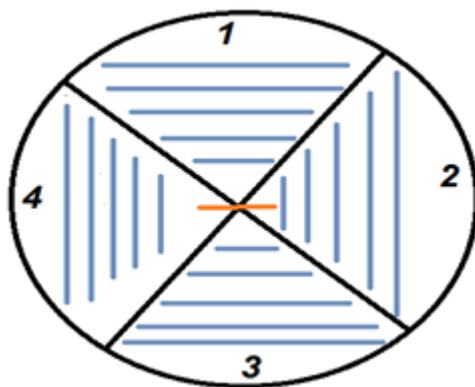
CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO

En general, los medios de cultivo deben contar con un control de calidad físico (21-22mm de espesor, sin grumos ni hemólisis, su consistencia debe ser óptima, ni muy dura, ni muy blanda), un control de esterilidad (uno de los agares debe incubarse por 72 horas), un control de pH a través de pHmetro y un control de productividad y selectividad llamado control ecométrico. En el caso del agar Mueller Hinton, su espesor debe ser de 22mm y su pH debe ser de 7,2 a 7,4 y su control debe hacerse por pHmetro.

Los controles de productividad y selectividad permiten la evaluación de rendimiento, recuperación y crecimiento de microorganismos, así como la selectividad de los medios evaluados. Estos controles solo se realizan en el área de microbiología de la sede el Lago y en el caso de medios comerciales según la guía CLSI M22-A3 en donde se especifican los medios exentos y no exentos de este tipo de verificaciones adicionales a la comercial, solo se debe realizar para el medio usado para aislamiento de *Neisseria spp.* el cual no se encuentra exento de esta evaluación; en el caso de los medios preparados esta evaluación se debe realizar a todo medio. (Cada vez que se realiza cambio de casa comercial se debe solicitar los certificados de los medios de cultivo, en el cual esten estipuladas las especificaciones de la guía CLSI M22-A3)

El procedimiento es el siguiente:





INTERPRETACIÓN:

Se considera válida cualquier estría que tenga un crecimiento superior al 25% de la línea total, teniendo cada estría (Color Azul) un valor de 0,2 y la línea central (Color Naranja) un valor de 1, por lo tanto el valor máximo para crecimiento en este ensayo es de 5, y esto es denominado **Índice de Crecimiento Absoluto (ICA)** (Tortora,1993 ; Mossel, 2003).

Por ello el Índice de Crecimiento Absoluto indica la productividad del medio de prueba, para lo cual se considera que:

ICA	PRODUCTIVIDAD
4,5 - 5	ALTA
2,5 - 4,5	MEDIA
< 2,5	POCA
0	NO PRODUCTIVOS

El **ICA** también permite determinar la selectividad del medio cuando se siembra en este, el microorganismo interferente y para ello entre menos sea el valor del **ICA** mayor es la selectividad del medio (Mossel *et al.*, 1983).

ICA	SELECTIVIDAD
4,5 - 5	NO HAY SELECTIVIDAD
2,5 - 4,5	BAJA
< 2,5	MEDIA
0	ALTA

CONTROL DE pH (pHmetro):

Se debe anotar en el formato de control de calidad de medios preparados, el valor del pH obtenido en cada montaje.

Adicionalmente, una vez por semana se debe realizar revisión del pHmetro mediante los controles de calidad con estándares de pH 4, 7 y 10 que se tienen destinados para el equipo y anotar en el formato destinado para ello el valor obtenido.

CONTROL DE CALIDAD DE LA SANGRE DE CORDERO

Para garantizar que la concentración de hemoglobina de la sangre de cordero que se utiliza para la preparación de agar sangre sea la adecuada, se debe realizar la medición de la misma. Dicho parámetro debe estar entre 7 mg/dl y 14 mg/dl, que son los valores de referencia normales para ovinos.

En caso de que dicho parámetro no se observe dentro del rango establecido, es necesario comunicar a almacén el inconveniente para que el proveedor realice el cambio de la unidad de sangre enviada.

Adicionalmente se debe realizar siembra de una gota de la sangre en agares Sangre/MacConkey con el fin de garantizar la esterilidad de la misma. Dichos agares se incuban a 35°C-37°C durante 72 horas con observación cada 24 horas.

Anotar los resultados en el registro correspondiente. Solo aplica para sede Lago en donde se realiza la preparación de los medios de cultivo.

CONTROL DE ESTERILIZACIÓN

Para garantizar la correcta esterilización en el momento de preparar los medios de cultivo, es necesario el uso de las ampollas de control de esterilización, las cuales que contienen 4 ml de caldo nutritivo en el cual se encuentra las esporas de *Geobacillus stearothermophilus* (ATCC 7953) en concentraciones predefinidas. Las esporas en la ampolla son destruidas completamente luego de 15 minutos de esterilización a 121°C, por lo tanto durante la siguiente incubación no son capaces de crecer y de modificar el color del medio. A una temperatura más baja o a un tiempo de esterilización más corto, las esporas sobreviven parcialmente y por lo tanto durante la incubación son capaces de crecer y modificar el color del medio.

PROCEDIMIENTO:

1. Tome una ampolla y colóquela en el autoclave junto con los materiales a esterilizar.
2. Después de terminado el ciclo de esterilización, incube la ampolla a 55°C - 60°C por 24 a 48 horas.
3. Examine el control de la ampolla e interprete los resultados. Un cambio de color en el medio de violeta a amarillo indica crecimiento microbiano y un proceso de esterilización defectuoso. Si las ampollas mantienen el color violeta y aspecto claro indica ausencia de crecimiento microbiano y un proceso de esterilización exitoso. En caso de observar que el proceso de esterilización no fue el adecuado, se debe realizar de nuevo dicho proceso.
4. Como control positivo de las ampollas, lo cual indica la presencia de las esporas en el medio, incube una de ellas sin esterilizar. Realizar por cada lote de ampollas recibido.

CONTROL DE PRUEBAS MANUALES

Para todas las pruebas manuales que se realizan, se deben realizar los controles de calidad con cepas ATCC que garantizan el correcto funcionamiento de las mismas. El control se debe realizar una vez al mes para garantizar el correcto funcionamiento de los reactivos. El día que no se realice el control, en el formato correspondiente se debe colocar un guión en la casilla correspondiente. En el caso de Carba NP, realizar el control 1 vez por kit. Las pruebas manuales que se controlan son:

Cefinasa, Optoquina, Catalasa, Coagulasa, Oxidasa, Test de Hodge, Carba NP, Test de inactivación de carbapenemasas, test de ácido borónico, test de EDTA y tubo germinal (la realización de estas pruebas no esta estandarizada en todas las sedes).

CONTROL DE CALIDAD ANTIBIOGRAMA MANUAL O Kirby-Bauer. DISCO DIFUSIÓN

Se debe monitorear la precisión y exactitud del procedimiento de la prueba de susceptibilidad, el comportamiento de los reactivos utilizados en la prueba.

En el laboratorio de microbiología contamos con sensidiscos de antibióticos para hacer antibiogramas manuales cada vez que se requiera confirmar una resistencia y/o algún antibiótico específico. La Técnica de Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico .



El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18-24 horas a 35 °C (respetar este parámetro, porque temperaturas menores pueden disminuir la velocidad del crecimiento del germen y la difusión del antibiótico, dando halos irregulares difíciles de medir), y luego se miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo a tablas de CLSI. Los resultados se expresan como: *Sensible (S)*, *Intermedio (I)* y *Resistente (R)*.

Se debe realizar el control una vez al mes con todos los antibióticos disponibles para uno de los tres microorganismos mencionados, y los sensidiscos utilizados regularmente para los otros dos microorganismos mencionados en el formato. Registrar en el formato correspondiente.

CONTROL DE CALIDAD AMBIENTAL

Se realiza a incubadoras, balanza de preparación de medios de cultivo, cabina de bioseguridad y área de trabajo (mesones).

Frecuencia: Semanalmente

Medios de cultivo utilizados: Agar McConkey selectivo para microorganismos Gram Negativos, Agar Saboraud para Hongos y levaduras, Agar Sangre medio enriquecido para el crecimiento de múltiples microorganismos.

Procedimiento: Con medio de transporte, tomar las muestras de cada uno de los sitios, sembrar en los medios descritos anteriormente e incubar a 37 °C durante 72 horas con revisión diaria de los cultivos. Transcurrido este tiempo, si presenta negatividad se reporta en el formato Control medio ambiente, si se observa algún crecimiento en cualquiera de los medios utilizados, se procede a la identificación del microorganismo, se realiza desinfección del área y posteriormente se realiza el control del ambiente para verificar la eficacia de la desinfección.

CONTROLES DE COLORACIONES DE GRAM

FUNDAMENTO

El fundamento de la coloración se basa en la composición de la pared celular bacteriana. La pared de las bacterias Gram Positivas contiene gran cantidad de Péptidoglicano unido con ácidos lipoteicoicos que retienen el colorante primario resistiendo la decoloración con el alcohol-acetona. La pared celular de las bacterias Gram negativas en cambio, tienen menos cantidad de Peptidoglicano y una gran capa de Lipopolisacáridos y proteínas que permiten la entrada del colorante primario, pero no lo retienen sino que se dejan decolorar tomando luego el colorante de contraste.

Deberán realizarse para GRAM usando cepas frescas de colonias tipo ATCC.

1. Tomar con un escobillón estéril bastantes colonias de una cepa pura ATCC gram positiva y homogenizarla en un tubo estéril con caldo BHI y hacer lo mismo con una cepa ATCC Gram negativa.
2. Marcar láminas nuevas desengrasadas en los extremos en donde ira el gram positivo y el gram negativo.
3. Dispensar una gota de cada homogeneizado en su extremo correspondiente y en el centro dispensar una mezcla de los dos, para lo cual deberá hacerse un homogeneizado en otro caldo BHI una mezcla de las dos cepas.
4. Dejar secar a temperatura ambiente
5. Fijar al calor, pasando tres veces la lámina a la llama.

Resultados:

Staphylococcus aureus: Cocos de color Azul Púrpura

Escherichia coli: Bacilos de color rosado.

Si la coloración no es satisfactoria se debe establecer el tiempo de coloración de acuerdo con el lote de reactivo nuevo.

El registro de control de coloración de Gram se lleva diario en la hoja de control de calidad de Coloraciones Gram con fecha y firma de quien lo realiza.

DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE MÚLTIPLES PATÓGENOS

En la actualidad muchas de las infecciones sistémicas son causadas por distintos microorganismos y para la detección de muchos de ellos son necesarias distintas pruebas que dependen de la disponibilidad de distintas tecnologías lo cual incrementa muchas veces el tiempo y dificulta poder realizar un diagnóstico rápido y acertado.

La detección de múltiples microorganismos de manera simultánea cuando se sospecha infección es una de las estrategias empleadas para minimizar el tiempo de respuesta y acción con los pacientes afectados; poder realizar esta detección en la misma muestra se ha convertido en una gran ventaja para el diagnóstico y por esto distintas tecnologías han usado la biología molecular para desarrollar pruebas que permitan la detección simultánea de múltiples patógenos en una muestra mediante la realización de pruebas de PCR multiplex que complementadas con la revelación de tiempo real, permiten en cortos tiempos obtener resultados finales.

Paneles Film Array

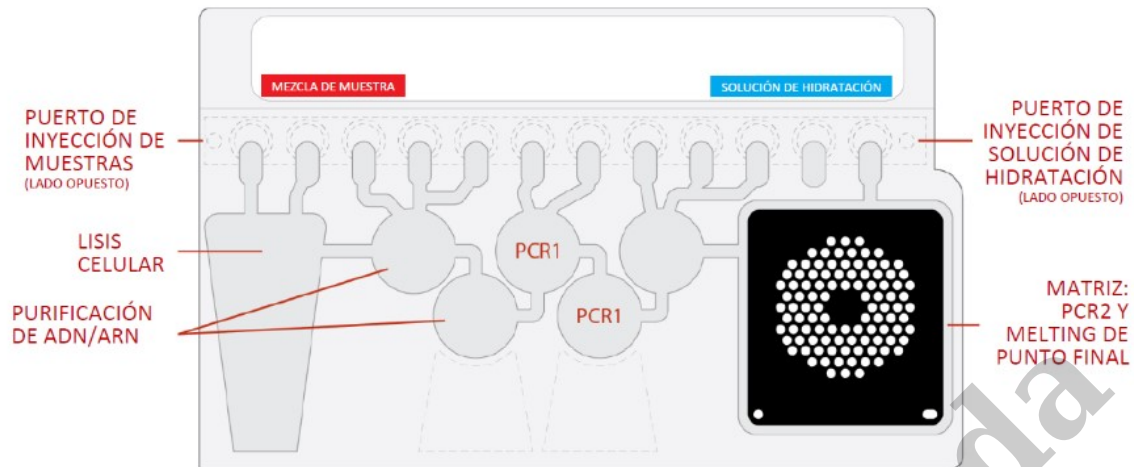
Los paneles filmarray son paneles que permiten la detección de múltiples microorganismos en la misma muestra empleando la técnica de PCR multiplex anidada en tiempo real, lo cual permite amplificar de manera simultánea el material genético de los microorganismos presentes en la muestra y revelar la presencia de estos y algunos genes de resistencia. A continuación se describen los pasos del proceso:

Purificación del material genético: la muestra se lisa por agitación con perlas de cerámica y el ácido nucleico liberado se lava y eluye mediante perlas magnéticas.

Primera etapa de la PCR múltiple: el objetivo de esta primera etapa es enriquecer y multiplicar los ácidos nucleicos liberados y para esto la muestra se mezcla con un mix maestro precalentado.

Segunda PCR: los productos generados en la primera etapa se mezclan con los reactivos de PCR que contienen un colorante de fijación que permite revelar las reacciones, esta solución se distribuye en la matriz de pozos de reacción en los cuales se encuentran los cebadores específicos para los diferentes ensayos (cada uno por triplicado) dirigidos a las secuencias diana de cada uno de los microorganismos y los mecanismos de resistencia que el panel detecta

Análisis de fusión: luego de la segunda etapa, la temperatura se aumenta lentamente y se controla la fluorescencia emitida de los productos amplificados para generar una curva de fusión que es analizada por el equipo para la notificación de los resultados. De las tres réplicas que se analizan para cada detección dos de ellas deben coincidir en la interpretación como positiva y además de esto la temperatura de fusión debe ser similar entre ellas, de esta manera se considera positiva alguna detección. Regularmente la interpretación de cada prueba es reportada como **DETECTADO** o **NO DETECTADO**.



Controles de la prueba

DNA Process control: Es un control interno que permite evaluar las etapas del proceso desde el inicio al incorporar en los paneles DNA de una levadura (*Schizosaccharomyces pombe*) el cual es sometido de manera simultánea a todos los procesos del panel, de esta manera se verifica que tanto la amplificación primaria como la secundaria se hayan dado de manera eficaz

PCR2 Control: es un control que detecta un DNA diana que se ha secado en los pozos de reacción de la segunda PCR junto con sus correspondientes cebadores para asegurar que esta reacción se dé eficazmente

Ambos controles deben pasar para que la prueba sea considerada como válida.

Panel Sepsis

Realizar la pronta detección del microorganismo causante de una bacteriemia y/o fungemia en un paciente con sepsis es crítico al momento de evaluar el pronóstico del paciente ya que está demostrado que por cada hora que el paciente no recibe el tratamiento específico, si probabilidad de recuperarse disminuye.

Con una botella de un hemocultivo positivo es posible realizar un Panel BCID/Sepsis en el cual se pueden detectar 24 microorganismos y tres mecanismos de resistencia asociados a algunos de estos en aproximadamente una hora:

Tabla 1. Resultados de la prueba del FilmArray BCID Panel

Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas	Levadura
<i>Enterococcus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Enterobacteriaceae	<i>Candida glabrata</i>
Staphylococcus	Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Candida krusei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
Streptococcus	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Genes de resistencia a los antibióticos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Proteus</i>	<i>mecA</i> : resistencia a meticilina
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>vanA/B</i> : resistencia a vancomicina
	<i>Haemophilus influenzae</i>	KPC: resistencia al carbapenem
	<i>Neisseria meningitidis</i> (encapsulada)	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

El subcultivo de las muestras es necesario para la recuperación de los microorganismos y la evaluación de su perfil antimicrobiano, por esta razón es recomendable que no se deje de realizar.

Volumen y Tipo de muestra: 0.2 mL (200 uL) de una botella de Hemocultivo Positivo

Estabilidad de la muestra: Máximo 8 horas después de la detección del equipo automatizado del hemocultivo positivo

Panel Meningitis

Las infecciones del Sistema Nervioso Central son responsables de las enfermedades inflamatorias de Cerebro o de los tejidos meníngeos que lo cubren y aproximadamente el 15 % de estos casos tienen un desenlace fatal o incapacidades permanentes, por esta razón el rápido diagnóstico y acciones oportunas permiten mejorar la evolución de estos cuadros.

El procesamiento del Panel M/E permite la detección de 14 patógenos en una muestra de LCR en aproximadamente una hora:

Tabla 1. Bacterias, virus y levaduras detectados por el FilmArray ME Panel

Bacterias	
<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Virus	
Cytomegalovirus (CMV) (citomegalovirus)	Enterovirus (EV) (enterovirus)
Human herpesvirus 6 (HHV-6) (herpesvirus humano 6)	Herpes simplex virus 1 (HSV-1) (virus del herpes simple tipo 1)
Human parechovirus (HPeV) (parechovirus humano)	Herpes simplex virus 2 (HSV-2) (virus del herpes simple tipo 2)
Varicella zoster virus (VZV) (virus varicela-zóster)	
Levadura	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Los resultados de esta prueba no deben ser empleados como la única base de diagnóstico; el agente detectado puede no ser la causa definitiva del cuadro clínico y un resultado negativo no descarta una infección del SNC

Volumen y tipo de muestra: 0.2 mL (200 uL) de un LCR sin centrifugar

Estabilidad de la muestra: La muestra debe ser procesada lo antes posible

Temperatura ambiente: 1 día

Refrigerada: 7 días

Panel Gastrointestinal

A pesar de los muchos avances en cuidados sanitarios las infecciones gastro intestinales siguen siendo un problema de salud pública tanto que aun en este momento son un indicador de vigilancia epidemiológica por los laboratorios de salud pública. A nivel mundial las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) causantes de enfermedades diarreicas infecciosas son una causa significativa de mortalidad principalmente en los menores. Regularmente los microorganismos causantes de estas infecciones no son blanco de detección de los cultivos realizados de rutina y por esto la importancia de la búsqueda activa de estos mismos.

El procesamiento del panel gastrointestinal permite la detección simultánea de 22 patógenos en muestras de heces diarreicas:

Tabla 1. Bacterias, virus, *E. coli*/*Shigella* diarrogénica, y parásitos detectados por el FilmArray GI Panel

Bacteria	Virus
<i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> / <i>C. coli</i> / <i>C. upsaliensis</i>)	Adenovirus F 40/41
<i>Clostridium difficile</i> (toxina A/B)	Astrovirus
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Norovirus GI/GII
<i>Salmonella</i>	Rotavirus A
<i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> / <i>V. vulnificus</i> / <i>V. cholerae</i>)	Sapovirus (Genogrupos I, II, IV, y V)
<i>V. cholerae</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	
<i>E. coli</i> / <i>Shigella</i> diarrogénica	Parásitos
<i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	<i>Cryptosporidium</i>
<i>E. coli</i> enteropatógena (EPEC)	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC) <i>lt/st</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>E. coli</i> productora de toxina tipo Shiga (STEC) <i>stx1/stx2</i>	<i>Giardia lamblia</i>
<i>E. coli</i> O157	
<i>Shigella</i> / <i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	

Volumen y tipo de muestra: 0.2 mL (200 uL) de heces líquidas en medio de transporte Cary Blair suministrado con el kit

Estabilidad de la muestra: La muestra debe ser procesada lo antes posible

Temperatura ambiente: 4 días

Refrigerada: 4 días

Panel Neumonía

Las infecciones del tracto respiratorio inferior pueden ser causadas por un número variable de patógenos que general complicaciones locales y sistémicas y que generan en el individuo diversos síntomas como tos, dificultad para respirar, fiebre, debilidad, fatiga, entre otros y debido a la similitud de los cuadros clínicos es difícil determinar un agente probable. Una dificultad a la hora de diagnóstico es la interpretación de los resultados de los cultivos ya que la sola presencia de microorganismos en un cultivo no corresponde siempre al agente etiológico del cuadro de neumonía y se debe relacionar con un recuento. La importancia de la identificación de mecanismos de resistencia bacteriana también es un factor muy importante a la hora de tomar acciones para dirigir el tratamiento.

La realización del panel neumonía en muestras de origen respiratorio permite la detección de 26 microorganismos y 7 mecanismos de resistencia

Tabla 1. Analitos detectados por el FilmArray Pneumonia Panel

Bacterias		
Complejo <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Complejo <i>Enterobacter cloacae</i>	Grupo <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus</i> spp.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Bacterias atípicas		
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Virus		
Adenovirus	Rinovirus/Enterovirus humano	Virus parainfluenza
Coronavirus	Influenza A (Gripe A)	Virus respiratorio sincitial
Metaneumovirus humano	Influenza B (Gripe B)	
Genes de resistencia a los antibióticos		
CTX-M	NDM	<i>mecA/C</i> y MREJ
IMP	De tipo OXA-48	
KPC	VIM	

Volumen y tipo de muestra: aproximadamente 0.2 mL (200 uL) de Espudo, Lavados Bronco Alveolares, Aspirados Endo Traqueales, tomados con el hisopo que viene en el kit

Cuando la muestra enviada sea Espudo (el servicio que envía la muestra debe indicar obligatoriamente el tipo de muestra ya que esto solo aplica para Espudo, en caso que no indique comunicarse con la sede), se debe realizar coloración de gram a la muestra para evaluar la calidad de la misma y así procesar una muestra significativa; según el resultado de la coloración:

LEUCOCITOS	CELULAS EPITELIALES	ACCIÓN
> 25 X CAMPO	< 10 X CAMPO	PROCESAR
> 25 X CAMPO	> 10 X CAMPO	NO PROCESAR
< 25 X CAMPO	< 10 X CAMPO	NO PROCESAR
< 25 X CAMPO	> 10 X CAMPO	NO PROCESAR

Si la muestra no cumple los requisitos de calidad se debe solicitar nueva muestra, indicando el rechazo por calidad de la muestra

Estabilidad de la muestra: La muestra debe ser procesada lo antes posible

Refrigerada: 1 día

Panel Respiratorio

Las infecciones del tracto respiratorio inferior pueden ser causadas por un número variable de patógenos que general complicaciones locales y sistémicas y que generan en el individuo diversos síntomas como tos, dificultad para respirar, fiebre, debilidad, fatiga, entre otros y debido a la similitud de los cuadros clínicos es difícil determinar un agente probable. Muchas de las infecciones respiratorias agudas (IRA) son causadas por distintos Virus y Bacterias Atípicas que por laboratorio convencional su identificación es difícil por la imposibilidad de hacer cultivo viral de rutina y por los requerimientos de crecimiento de las bacterias atípicas.

La realización del panel respiratorio en un hisopado naso faríngeo permite la detección de 15 virus

de afectación respiratoria y cuatro bacterias atípicas

THE BIOFIRE RESPIRATORY 2.1 (RP2.1) PANEL MENU with SARS-CoV-2

Overall 97.1% Sensitivity and 99.3% Specificity¹

Sample Type: Nasopharyngeal swab in transport media

VIRUSES:

- Adenovirus
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus NL63
- Coronavirus 229E
- Coronavirus OC43
- **Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)**
- Human Metapneumovirus
- Human Rhinovirus/Enterovirus
- Influenza A
- Influenza A/H1
- Influenza A/H3
- Influenza A/H1-2009
- Influenza B
- Parainfluenza Virus 1
- Parainfluenza Virus 2
- Parainfluenza Virus 3
- Parainfluenza Virus 4
- Respiratory Syncytial Virus

BACTERIA:

- *Bordetella parapertussis*
- *Bordetella pertussis*
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*

Copia no controlada

- Adenovirus
- Coronavirus 229E
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus NL63
- Coronavirus OC43
- Metaneumovirus humano
- Rinovirus/Enterovirus humano
- Gripe A, incluidos los subtipos H1, H1-2009 y H3
- Gripe B
- Virus parainfluenza 1
- Virus parainfluenza 2
- Virus parainfluenza 3
- Virus parainfluenza 4
- Virus respiratorio sincitial
- *Bordetella parapertussis* (IS1001)
- *Bordetella pertussis* (ptxP)
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*

Volumen y tipo de muestra: 0.3 mL (300 uL) de hisopado naso faríngeo en medio viral universal suministrado con el kit

Estabilidad de la muestra: La muestra debe ser procesada lo antes posible

Temperatura ambiente: 4 horas

Refrigerada: 3 días

PROCESAMIENTO GENERAL DE MONTAJE

- Preparación del área de montaje:

El área de montaje con guantes limpios se debe desinfectar inicialmente con una solución de

hipoclorito de sodio al 0.5% para eliminar ácidos nucleicos, se debe limpiar tanto el área como la estación de carga, el cartucho y la muestra, luego se debe limpiar con alcohol al 70% para neutralizar la solución del hipoclorito y continuar con la eliminación de microorganismos y por último hacer una limpieza con agua destilada para eliminar cualquier residuo de los reactivos anteriores

Revisión del cartucho de montaje: con unos guantes distintos a los empleados en la limpieza, se debe revisar el reactivo que se va a emplear para el montaje verificando el nombre del reactivo, su fecha de vencimiento y el vacío que se siente y escucha al abrir el empaque, en ese momento tomar el cartucho por el código de barras y verificar el estado del panel.

- Preparar el panel en la estación de carga:

Insertar el Vial de Inyección de muestra (Rojo) y el Vial de Hidratación (Azul), en los espacios designados por color para esto

Insertar el panel en la estación de carga haciendo coincidir los espacios de inyección con los viales de inyección

- Hidratar la bolsa:

Tomar el vial de hidratación (Azul), desenroscar con ayuda de la estación de carga e inyectar en el panel presionando hacia abajo, en ese momento verificar que todos los pozos a excepción del correspondiente a la muestra se hayan hidratado

- Preparar la muestra

Inicialmente agregar el buffer en el vial de inyección de muestra, para esto tomar el buffer boca arriba, quebrar el seguro en el medio del reactivo, sin tocar la punta voltear el reactivo y servir en el vial presionándolo hasta ver burbujas.

Luego agregar la muestra con la pipeta del kit (si aplica) según el panel a procesar

Respiratorio: 300 uL del medio de transporte viral en el cual se re suspendió el hisopado

Sepsis: 200 uL de un hemocultivo positivo

Gastro: 200 uL del medio Cary Blair en el cual se re suspendieron las heces diarreicas

M/E: 200 uL del LCR sin centrifugar

Neumonía: Hisopo de la muestra, re suspender en el buffer y quebrar

Luego cerrar el vial de inyección de la muestra y mezclar por inversión, tres veces para homogenizar la muestra con el buffer, volver a colocar el vial en la estación de carga

Inyección de la muestra en el panel:

Desenroscar el vial de inyección de la muestra con ayuda de la estación de carga, espere 5 segundos y a continuación inyectar la muestra en el panel verificando que se haya cargado el pozo de la muestra, retornar el vial a estación de carga

- Análisis del panel:

Retirar el panel de la estación de carga y llevar al analizador. Para la programación del panel seguir las indicaciones del equipo (2.0 o TORCH) en la cual se hace la identificación del panel y de la muestra con ayuda del láser detector, el ingreso en el equipo del cartucho.

Ingresar el usuario que se encuentra procesando la muestra y dar "START RUN" cuando se hayan realizado todos los pasos.

- Reporte de Resultados:

Al finalizar el tiempo de análisis el equipo arrojará el resultado del panel generando un reporte consolidado del panel y un detallado de cada parámetro analizado. Transcribir estos datos en el sistema de laboratorio y validar

Descarte y alistamiento de la zona de proceso

Tapar bien los viales de hidratación y de inyección y descartar en un contenedor de paredes rígidas, descartar los empaques del cartucho y almacenar la muestra según las indicaciones del área.

Con los guantes con los cuales se realizó la desinfección limpiar el área y la estación de carga con Hipoclorito, Alcohol y Agua como se mencionó al inicio y descartar los guantes y los EPP.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Manual de Toma de muestras de la Secretaria Distrital de Salud. 2009.

Norma CLSI M-100

Manual de Actualización en resistencia bacteriana CLSI M100.

Guías y protocolos OMS 2010. <http://www.who.int/es/>.

Protocolos Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica SEIMC
aprendeonline.udea.edu.co - Plataforma académica para pregrado y posgrado Universidad de Antioquia

Arévalo Rey M. Comparación de las técnicas operativas de prueba E-test con la prueba de dilución en agar para determinar susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori*. Revisión sistemática. 2008. Tesis de grado. Disponible en: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis184.pdf>

Arévalo Rey M, Avila Coy J, et al. Sensibilidad y especificidad de E-test para la determinación de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori*. Julio-Diciembre 2008. NOVA, Revista científica en ciencias biomédicas. Vol 6 No 10. Disponible en: <http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/6768/1/vol06n10art10.pdf>

Jaramillo Velasquez S. Prueba de Epsilon (Etest). Revisión. Revista CES. Medicina. Volumen 12. No 1. Disponible en: <file:///C:/Users/user/Documents/Downloads/822-2911-1-PB.pdf>

Vjera Triantafilo V. Evaluación e indicación de las técnicas de difusión-dilución (epsilometría). Rev Chil Infect (2002); 19 (Supl. 2): S 85-87. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v19s2/art03.pdf>

Sanchez E. et al, Amplificación isotérmica de ácido nucleicos. Revista Con-Ciencia. Vol 2(2014) 1, 125-138.

Detección de TB de forma precisa y sencilla. Resultados rápidos y fiables con TB-LAMP. HUMAN

Joon D, Nimesh M, Saluja D. Loop-mediated isothermal amplification as alternative to PCR for the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis. INT J TUBERC LUNG DIS 19(8):986-991. 2015

World Health Organization Model List of Essential In Vitro Diagnostics. 2018. First Edition. World Health Organization

Genexpert Dx System. Manual del operador. Cepheid. Junio de 2012

Xpert® MTB/RIF and Xpert® MTB/RIF Ultra Alternate Specimen Testing Procedures.

Módulo 6: GeneXpert Tecnología y Procedimientos del GeneXpert MTB/RIF. Iniciativa Mundial del Laboratorio. Módulos de Capacitación de Xpert MTB/RIF

Sustancias interferentes. Xpert MTB/RIF Ultra, Mayo de 2017

Módulo 1: Sobre tuberculosis (TB) y su diagnóstico. . Iniciativa Mundial del Laboratorio. Módulos de Capacitación de Xpert MTB/RIF

Technical and operation “how to” practical consideration. Xpert MTB/RIF implementation manual. World Health Organization

Copia no controlada