

 <p>República de Colombia Gobernación de Santander</p>	<p>MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA</p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	1 de 15

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL PARA LA IDENTIFICACION DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	2 de 15

TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	3
2. ALCANCE	3
3. RESPONSABILIDADES.....	3
4. DEFINICIONES.....	3
5. CONDICIONES GENERALES	4
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO.....	5
7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS	6
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	6
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA	7
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA	8
10.1 Equipos	9
10.2 Reactivos.....	9
10.3 Controles (si aplica).....	10
10.4 Material de referencia (si aplica)	10
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	10
12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO.....	13
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	14
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	14
15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS	14
16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA	14
17. ANEXOS	14
18. CONTROL DE CAMBIOS	15

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	3 de 15

1. OBJETIVO

Describir el procedimiento para la identificación de aislamientos bacterianos y micóticos a través del método automatizado de colorimetría avanzada y determinar los perfiles de susceptibilidad a los antimicrobianos utilizando la técnica de microdilución, empleando el equipo Vitek® 2 Compact.

2. ALCANCE

El procedimiento descrito en el presente manual aplica para la identificación de aislamientos bacterianos y micóticos recibidos en el Laboratorio Departamental de Salud Pública como parte de la vigilancia de los siguientes eventos de interés publica correspondientes al área de microbiología:

- Vigilancia por laboratorio de *Neisseria gonorrhoeae*.
- Vigilancia por laboratorio de *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*.
- Vigilancia por laboratorio de EDA y ETA.
- Vigilancia por laboratorio de *Vibrio cholerae*
- Vigilancia por laboratorio de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*
- Vigilancia por laboratorio de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud y confirmación de mecanismos de resistencia y estudio de brotes.
- Vigilancia por laboratorio de aislamientos bacterianos de *Salmonella spp.*
- Vigilancia por el laboratorio de *Candida auris*.

3. RESPONSABILIDADES

Es responsabilidad del coordinador del Grupo de Laboratorio de Salud Pública o de su delegado realizar la revisión y aprobación del presente documento.

Es responsabilidad del profesional del área de microbiología clínica, cumplir con los procedimientos descritos en el presente manual.

Es responsabilidad de los auxiliares de laboratorio apoyar las actividades y procesos que designe el profesional del área con el fin de contribuir al desarrollo de los procedimientos descritos en el presente manual.

4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

Antibiótico: agente biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	4 de 15

ATCC®: American Type Culture Collection.

Cepa: cultivo puro formado por microorganismos descendientes de un solo aislamiento.

CLSI: Clinical Laboratory Standard Institute.

Concentración inhibitoria mínima (CIM): se le define como la concentración más baja de un antibiótico que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de su incubación respectiva.

EDA: Enfermedad Diarreica Aguda.

ETA: Enfermedad Transmitida por Alimentos.

Escala de McFarland: estándar de turbidez de sulfato de bario usada como referencia para ajustar la turbidez de suspensiones bacterianas o micóticas para lograr un rango establecido en pruebas de identificación y susceptibilidad.

Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS): son aquellas infecciones que el paciente adquiere mientras recibe tratamiento para alguna condición médica o quirúrgica y en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del ingreso a la institución.

INS: Instituto Nacional de Salud.

Inóculo: alícuota de un cultivo bacteriano o micótico.

ITS: Infección de Transmisión Sexual.

LDSP: Laboratorio de Departamental de Salud Pública.

Medio de cultivo: Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación microbiana in vitro.

Siembra: colocar los microorganismos en medios de cultivo.

5. CONDICIONES GENERALES

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	5 de 15

Por tratarse de muestras con un alto potencial de infección, la manipulación de todos los aislamientos bacteriano o micóticos deben realizarse en cabina de bioseguridad clase A II, garantizando los procesos de verificación y certificación de las mismas y empleando las precauciones de bioseguridad como: zapato cerrado, batas desechables, gafas de protección y tapabocas quirúrgico o N95 según el caso.

En el interior de la cabina de bioseguridad se debe contar con lapiceros y marcadores de uso exclusivo y guardián para descartar material como puntas, asas de desechables y material corto punzante.

Usar guantes desechables de nitrilo durante todo el procesamiento de los aislamientos. No se debe utilizar guantes fuera del laboratorio. No se debe utilizar el teléfono ni abrir las puertas con guantes utilizados en pruebas de laboratorio. El personal de laboratorio se debe lavar las manos inmediatamente después de haberse quitado los guantes.

Emplear asas desechables y descartarlas en el guardián. Al terminar los procedimientos dentro de la cabina de bioseguridad se deben limpiar las superficies y los equipos en su interior con alcohol isopropílico al 70%, luego aplicar luz UV por 15 minutos.

Se debe registrar uso de la cabina en el Formato de uso de equipos (MI-GS-RG-364) y la limpieza de la misma en el Formato de verificación de limpieza de áreas y superficies (MI-GS-RG-115). Para otros aspectos relacionados se puede consultar el Manual de Bioseguridad (MI-GS-MA-06) disponible en la intranet de la Gobernación de Santander.

Se deben seguir las recomendaciones del fabricante para el uso adecuado de las tarjetas de identificación y pruebas de susceptibilidad, así como el manejo de equipos Vitek® 2 Compact y el Kit de DENSICHEK™ Plus.

6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

6.1 Colorimetría avanzada

Las tarjetas de identificación Vitek® 2 se basan en métodos bioquímicos establecidos y sustratos desarrollados para medir la utilización de la fuente de carbono y actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras.

El sistema este programado para detectar cambios de color en los pozos de reacción de las tarjetas a partir de lecturas cada 15 minutos en 3 longitudes de

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	6 de 15

ondas (660 nm, 430 nm y 568 nm) y a través del software de análisis basado en algoritmos lograr la identificación de los microorganismos.

6.2 Microdilución

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se basan en la lectura de la turbiedad a una longitud de onda de 660 nm en los pozos de reacción de las tarjetas que contienen diluciones estandarizadas de distintos antibióticos correspondientes a los puntos de corte de sensibilidad establecidos por CLSI. El análisis de los diferentes perfiles de susceptibilidad es realizado a través del Software Advanced Expert System® del sistema Vitek®.

7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

- Origen de la muestra y tratamiento farmacológico o antimicrobiano del paciente.
- Aislamientos no viables, debido a condiciones previas de conservación y transporte.
- Aislamientos contaminados con dos o más cepas.
- Aislamientos identificados de manera incorrecta.
- Emplear reactivos vencidos.
- Contaminación cruzada de las áreas por desinfección inadecuada.
- El uso de medios de cultivo diferentes a los recomendados en los documentos técnicos de las tarjetas Vitek®.
- Uso de guantes con talco, ya que éste puede afectar el funcionamiento del sistema óptico del equipo Vitek® 2 Compact.
- Usar las tarjetas después de la fecha de caducidad.
- Usar tubos de ensayo de vidrio, se deben utilizar exclusivamente tubos de ensayo de plástico (poliestireno).
- El uso de agentes químicos en la limpieza de los equipos puede afectar al rendimiento de las tarjetas.

8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Los aislamientos bacterianos y micóticos recibidos en el LDSP para la vigilancia de los eventos correspondientes al área de microbiología clínica deben provenir de cepas puras, enviados por las instituciones en los medios de transporte y a la temperatura de conservación adecuada según el microorganismo, siguiendo las recomendaciones del INS en el “Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia”.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	7 de 15

Los laboratorios de la red que envíen muestras al área de microbiología clínica del LDSP deben tener en cuenta los lineamientos donde se establecen los siguientes criterios de rechazo de las muestras:

- Aislamientos enviados en cajas de Petri.
- Muestras no rotuladas.
- Muestras recibidas a temperaturas de conservación inadecuadas.
- No concordancia entre la papelería y los rótulos de las muestras.
- Fichas de envío incorrecta o sin diligenciar en su totalidad.
- Documentación incompleta.

Las muestras recibidas en el LDSP serán rotuladas por el personal de la recepción con un código único y registrado en las bases de datos correspondientes con el fin de garantizar la trazabilidad de la misma.

Para llevar a cabo el procedimiento de identificación y pruebas de susceptibilidad, las muestras que cumplan las condiciones para el análisis deben ser registradas en el Software de equipo siguiendo las indicaciones del “Instructivo de uso del equipo Vitek® 2 Compact” (MI-GS-IN-25).

9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Las condiciones para la conservación de los aislamientos dependen del tipo de microorganismo y del medio de transporte utilizado, según como se relaciona en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de almacenamiento de aislamientos bacterianos y micóticos

EVENTO	MICROORGANISMO	MEDIO DE TRANSPORTE	TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO
EDA – ETA	- <i>Salmonella spp.</i> - <i>Shigella spp.</i> - <i>Escherichia coli</i> O157:H7 - <i>Vibrio spp.</i>	Cary Blair	0°C a 23°C
	<i>Campylobacter spp.</i>	Cary Blair	2°C a 8°C
	<i>Listeria monocytogenes</i>	AMIES con carbón activado	2°C a 8°C
Meningitis Bacteriana Infección	- <i>Streptococcus pneumoniae</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> - <i>Neisseria meningitidis</i>	AMIES con carbón activado	10°C a 25°C

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	8 de 15

EVENTO	MICROORGANISMO	MEDIO DE TRANSPORTE	TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO
Respiratoria Aguda			
ITS	- <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	AMIES con carbón activado	15°C a 25°C
Resistencia a los antimicrobianos en infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS)	Microorganismos Gram positivos y Gram negativos, recuperados de IAAS	Cary Blair o AMIES con carbón activado	5°C a 25°C
Micosis sistémica	- <i>Candida spp.</i> - <i>Cryptococcus spp.</i>	Cary Blair o AMIES con carbón activado	10°C a 25°C
Bacteriología general	- <i>Streptococcus agalactiae</i> - <i>Burkholderia pseudomallei</i> Otros microorganismos causantes de Meningitis Bacteriana Aguda	AMIES con carbón activado	5°C a 25°C

Después de realizados los procedimientos correspondientes a la identificación, pruebas de susceptibilidad, y realizado el informe de resultado de ensayo, los aislamientos que no sean objeto de referencia al INS o de interés para futuros análisis, así como los residuos generados de su análisis, serán descartados en caneca roja según lo descrito en el Plan de gestión integral para los residuos generados en la atención en salud y otras actividades – PGIRASA (MI-GS-PL-01)

10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

De manera rutinaria de debe realizar verificación de las condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa en el laboratorio de microbiología clínica, así como registrar la temperatura de equipos. Para ello se deben diligenciar los siguientes documentos:

- Control de temperatura de refrigeración (2 A 8°C) +/- __°C (Celsius) (MI-GS-RG-99)
- Control de temperatura incubadora 37 +/- __°C (Celsius) (MI-GS-RG-92).

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	9 de 15

- Control de temperatura y humedad relativa (MI-GS-RG-37).

Cada vez que se realiza el procesamiento de los aislamientos se inspeccionan los equipos asociados al procedimiento y se registra en el Formato “Mantenimiento equipo Vitek® 2 Compact” (MI-GS-RG-645) siguiendo las indicaciones de mantenimiento diario, semanal y mensual, además de registrar su uso en el “Formato de uso de equipos” (MI-GS-RG-364).

10.1 Equipos

- Refrigerador de 2°C a 8°C para el almacenamiento de reactivos y aislamientos que lo requieran.
- Incubadora con rango de temperatura de 37°C +/- 2
- Cámara de anaerobiosis
- Cabina de bioseguridad clase A II
- Agitador tipo vórtex
- Kit Densisheck™ Plus de Vitek®
- Equipo Vitek® 2 Compact y sus accesorios
- Tubos de ensayo de plástico transparente (poliestireno) de 12x75 mm
- Asas estériles de 10 uL
- Dispensador de líquidos de volumen ajustable

10.2 Reactivos

- Agar Sangre
- Agar Chocolate
- Agar Hektoen
- Agar MacConkey
- Agar XLD
- Agar TCBS
- Agar Oxford
- Agar Palcam
- Agar Baird Parker
- Solución salina estéril al 0,45 a 0,50%, con un pH de 4,5 a 7,0
- Sobres generadores de anaerobiosis
- Indicadores de anaerobiosis.
- Tarjeta de identificación de Gram negativos (GN) Vitek® 2.
- Tarjeta de identificación de Gram positivos (GP) Vitek® 2.
- Tarjeta de identificación de *Neisseria - Haemophilus* (NH) Vitek® 2.
- Tarjeta de identificación de levaduras (YST) Vitek® 2.
- Tarjeta de sensibilidad de Gram negativos (AST - N403) Vitek® 2.
- Tarjeta de sensibilidad de Gram positivos (AST – P663) Vitek® 2.
- Tarjeta de sensibilidad de Gram positivos (AST – ST03) Vitek® 2.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	10 de 15

- Tarjeta de sensibilidad fúngica (AST – YS08) Vitek® 2.

10.3 Controles (si aplica)

- Kit de Standard Densischeck™ Plus de Vitek®

10.4 Material de referencia (si aplica)

- Cepas ATCC® según el medio de cultivo y la tarjeta empleados.

11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

11.1 Registro de datos

Una vez recibido el aislamiento en el área de microbiología clínica, se procede a verificar que los datos registrados en los documentos concuerden con los de las muestras y que cumplan con los lineamientos vigentes. Luego se procede a registrar en las bases de datos correspondientes según el evento y a almacenar las muestras temporalmente de acuerdo a las condiciones descritas en la Tabla N°1.

11.2 Identificación y pruebas de susceptibilidad de aislamientos.

11.2.1 Seleccionar el medio de cultivo apropiado según el microorganismo registrado en la documentación recibida y de acuerdo a los requerimientos propios de cada uno (Tabla N°2).

Tabla N°2. Condiciones adecuadas para el crecimiento e identificación de aislamiento bacteriano y micóticos.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

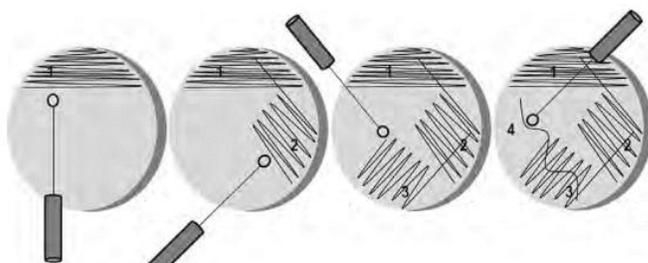
	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	11 de 15

MICROORGANISMO	MEDIOS DE CULTIVO	CONDICIONES DE INCUBACIÓN	TARJETA VITEK® 2
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Aeromonas spp</i> - <i>Acinetobacter spp</i> - <i>Burkholderia spp</i> - <i>Citrobacter spp</i> - <i>Enterobacter spp</i> - <i>Escherichia spp</i> - <i>Klebsiella spp</i> - <i>Proteus spp</i> - <i>Providencia spp</i> - <i>Pseudomonas spp</i> - <i>Salmonella spp</i> - <i>Shiguelia spp</i> <p>Otros Bacilos Gram Negativos Fermentadores de la familia Enterobacteriaceae y No Fermentadores</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Agar Hektoen - Agar MacConkey - Agar XLD - Agar Sangre 	<ul style="list-style-type: none"> - 35 °C a 37 °C - Atmósfera aerobia - Sin CO2 - 18 a 24 horas 	<ul style="list-style-type: none"> - Tarjeta (GN) - Tarjeta (AST-N403)
- <i>Vibrio spp</i>	- Agar TCBS		- Tarjeta (GP)
- <i>Listeria spp</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Agar Oxford - Agar Palcam 		- Tarjeta (AST-663)
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Enterococcus spp</i> - <i>Staphylococcus spp</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Agar Baird Parker - Agar Sangre 		- Tarjeta (AST-ST03),
- <i>Streptococcus. pneumoniae</i>	- Agar Chocolate	<ul style="list-style-type: none"> - 35 °C a 37 °C - Atmósfera aerobia - 5 – 10% CO2 - 18 a 24 horas 	Solo Para <i>S. pneumoniae</i>
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Neisseria meningitidis</i> - <i>Haemophilus. influenzae</i> 	- Agar Chocolate	<ul style="list-style-type: none"> - 35 °C a 37 °C - Atmósfera anaerobia - 5 – 10% CO2 - 18 a 24 horas 	- Tarjeta (NH)
<ul style="list-style-type: none"> - <i>Candida spp.</i> - <i>Cryptococcus spp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Agar Sangre - Agar Ogye 	<ul style="list-style-type: none"> - 30 °C a 37 °C - Atmósfera aerobia - Sin CO2 - 18 a 72 horas 	<ul style="list-style-type: none"> - Tarjeta (YST) - Tarjeta (AST-YS08)

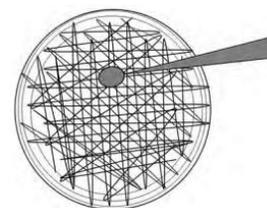
11.2.2 Realizar siembra en caja de Petri por la técnica de agotamiento o siembra masiva.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	12 de 15



Siembra por agotamiento



Siembra masiva

11.2.3 Incubar el cultivo garantizando las condiciones de temperatura, atmosfera de oxígeno, necesidad de CO₂ y tiempo, de acuerdo a las necesidades del microorganismo a identificar (Tabla N°2).

11.2.4 Pasado el tiempo de incubación, realizar inspección visual al cultivo y observar si las colonias obtenidas cumplen con las características fenotípicas del microorganismo a identificar.

11.2.5 Transferir 3 ml de solución salina estéril al 0.45%. en un tubo de ensayo de poliestireno.

11.2.6 Para la identificación del microorganismo, tomar con un asa estéril una cantidad suficiente de colonias morfológicamente similares del cultivo y suspenderla en el tubo de ensayo de poliestireno preparado en el punto 11.2.5

11.2.7 De acuerdo con la tarjeta a emplear, ajustar la turbiedad de la suspensión a una densidad equivalente a escala McFarland con la ayuda del kit Densischeck™ Plus de Vitek® de la siguiente manera:

TARJETA VITEK®	ESCALA MCFARLAND
- Tarjeta de identificación de Gram negativos (GN) - Tarjeta de identificación de Gram positivos (GP)	0.50 – 0.62
- Tarjeta de identificación de levaduras (YST)	1.80 – 2.20
- Tarjeta de identificación de <i>Neisseria - Haemophilus</i> (NH)	2.70 – 3.30

11.2.8 En caso de requerir prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos se prepara una dilución tomando de la suspensión preparada en el 11.2.7, 145 uL para Bacterias Gram Negativa o 280 uL para Bacterias Gram Positivas y Levaduras, y adicinarla a un nuevo tubo con 3 ml de solución salina estéril al 0.45%.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	13 de 15

11.2.9 Colocar el tubo de ensayo que contiene la suspensión dentro del casete, así como la tarjeta de identificación y/o prueba de susceptibilidad de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

11.2.10 Colocar el casete en la bandeja de llenado de equipo y seguir las indicaciones del “Instructivo de uso del equipo Vitek® 2 Compact”.

12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

Para el control de calidad a los medios de cultivos empleados durante el procedimiento se pueden emplear las siguientes cepas de ATCC®:

Tabla N°3 Cepas ATCC® para el control de calidad medios de cultivo

CEPA ATCC®	MEDIO DE CULTIVO
- <i>E.coli</i> ATCC® 25922 - <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 1705 - <i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 - <i>P. aeruginosa</i> ATCC® 27853	- Agar Hektoen - Agar MacConkey - Agar XLD
- <i>S. aureus</i> ATCC® 29213	- Agar Sangre - Agar Chocolate - Agar Baird Parker
- <i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115	- Agar Oxford - Agar Palcam
- <i>S. cerevisiae</i> ATCC® 9763	- Agar Ogye

Con el fin de garantizar el correcto funcionamiento de las tarjetas de identificación se recomienda emplear las cepas de ATCC® sugeridas por el fabricante:

Tabla N°4 Cepas ATCC® para el control de calidad de las tarjetas de identificación Vitek®.

CEPA	Tarjeta Vitek®
- <i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC® 700323 - <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC® 17666	- Tarjeta de identificación de Gram negativos (GN)
- <i>Enterococcus casseliflavus</i> ATCC® 700327 - <i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC® BAA 750	- Tarjeta de identificación de Gram positivos (GP)
- <i>Candida albicans</i> ATCC® 14053	- Tarjeta de identificación de Levaduras (YST)
- <i>Eikenella corrodens</i> ATCC® BAA 1152	- Tarjeta de identificación de <i>Neisseria - Haemophilus</i> (NH)

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	14 de 15

Para garantizar el correcto funcionamiento del sistema óptico del Densisheck™ Plus de Vitek® se realizará verificación y ajustes con el Kit de Standard Densisheck™ Plus.

13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las pruebas de identificación serán expresados utilizando la nomenclatura de microorganismos (género y especie) tal y como se reporte en el informe final generado por el Sistema Vitek®.

Las pruebas de susceptibilidad serán reportadas de acuerdo al análisis del Software Advanced Expert System® del Sistema Vitek®, que constan de la concentración mínima inhibitoria expresada en ug/mL y la interpretación del perfil de sensibilidad que puede ser resistente, intermedio o sensible.

14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Una vez validadas las pruebas de identificación y de susceptibilidad a los antimicrobianos en el Sistema Vitek®, se procede a hacer el registro en las bases de datos correspondientes y con la ayuda de herramientas ofimáticas a través de la opción de combinación de correspondencia se genera el resultado en el formato “Informe de Resultado de Ensayos” (MI-GS-RG-714).

15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

No se requieren otros análisis complementarios para este procedimiento.

16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia. 2020.

Biomerieux. Manual de usuario del instrumento Vitek® 2 Compact. 2020.

17. ANEXOS

- MI-GS-RG-364 Formato de uso de equipos.
- MI-GS-RG-115 Formato de verificación de limpieza de áreas y superficies.
- MI-GS-MA-06 Manual de Bioseguridad.
- MI-GS-PL-01 Plan de gestión integral para los residuos generados en la atención en salud y otras actividades – PGIRASA.
- MI-GS-RG-37 Control de temperatura y humedad relativa.
- MI-GS-RG-645 Mantenimiento equipo Vitek® 2 Compact.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS Y MICOTICOS Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA	CÓDIGO	MI-GS-MA-76
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	28/06/2023
		PÁGINA	15 de 15

- MI-GS-RG-99 Control de temperatura de refrigeración (2 A 8°C) +/- __°C (Celsius)
- MI-GS-RG-92 control de temperatura incubadora 37 +/- __°C (Celsius)
- Instructivo de uso del equipo Vitek® 2 Compact (MI-GS-IN-25).
- Instructivo de uso del equipo Densisheck™ de Vitek® (MI-GS-IN-28).
- “Informe Resultado de Ensayo” (MI-GS-RG-714).

18. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	28/06/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud	Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Diego Armando Medina	Diego Armando Medina	Alejandra Galvis Vargas