

**NUEVA
EDICIÓN
2018**

INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DIARIA


**CURSO
ONLINE**

18 DE ABRIL - 13 DE JUNIO 2018 - ATBgrama2018.evimed.net



redEMC
Infectología



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



Manual de recolección, procesamiento e interpretación de cultivos en muestras clínicas obtenidas para estudio bacteriológico

Asistente Dra. Laura Cabezas

Asistente Dra. Leticia Caiata

Asistente Dra. Claudia Gutiérrez

Asistente Dra. Matilde Outeda

Profesor Adjunto Dra. Rosario Palacio

Profesor Agregado Dra. Verónica Seija

Departamento de Laboratorio de Patología Clínica-Sección Microbiología

Hospital de Clínicas “Dr. Manuel Quintela”

Facultad de Medicina, Universidad de la República

Montevideo, Uruguay



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Tabla de contenidos

Tabla de contenidos	1
Importancia del tema	4
1. Normas básicas generales	5
2. Criterios de rechazo de solicitudes y/o muestras	6
2.1 Criterios de rechazo	6
3. Hemocultivos	7
3.1 Hemocultivos extraídos por vías venosas centrales (Retrocultivos)	10
4. Catéteres intravasculares	14
5. Urocultivo	17
5.1 Recolección por técnica de chorro medio	17
5.2 Recolección en el paciente con sonda vesical	19
5.3 Recolección por cateterización vesical	19
5.4 Recolección por nefrostomía u otros dispositivos de derivación urinaria	20
5.5 Recolección por punción suprapúbica	20
5.6 Detección de antígeno neumocócico en orina	24
6. Líquido cefalorraquídeo	25
6.1 LCR por punción lumbar	25
6.2 LCR obtenido de derivaciones externas e internas	26
7. Otros líquidos biológicos: peritoneal, ascitis, pericárdico, pleural, articular, etc.	30
7.1 Procesamiento de muestras de líquidos biológicos	32
8. Muestras del tracto respiratorio superior y anexos	35
8.1 Exudado nasal	35
8.2 Exudado faríngeo	36
8.3 Senos paranasales	37



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

8.4	Conducto auditivo externo	38
8.5	Oído medio – Timpanocentesis	39
9.	Muestras oculares	40
9.1	Exudado conjuntival	40
9.2	Raspados corneales	41
10.	Muestras del tracto respiratorio inferior	43
10.1	Expectoración	43
10.2	Secreciones traqueales	49
11.	Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopio	52
11.1	Broncoaspirado (BAS)	52
11.2	Lavado broncoalveolar (LBA) y lavado broncoalveolar a ciegas	53
12.	Piel y tejidos blandos	58
12.1	Heridas superficiales, abscesos abiertos y heridas quirúrgicas	59
12.2	Abscesos cerrados	60
12.3	Muestras de tejido y biopsias	61
12.4	Procesamiento de muestras de piel y partes blandas	62
13.	Muestras del tracto gastrointestinal	66
13.1	Coprocultivo	66
13.2	Condiciones de transporte y conservación de muestras clínicas para estudio bacteriológico	73
	Agradecimientos	74
	Referencias	75



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Importancia del tema

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas se basa en el estudio de los síntomas y signos clínicos, así como en la demostración de la presencia del agente, de sus productos o de la huella que éste ha dejado en su contacto con el sistema inmune del individuo. El diagnóstico clínico es, en muchos casos, orientador luego de evaluar los datos que ofrecen la historia clínica y la exploración pero, la confirmación de un diagnóstico clínico requiere del diagnóstico etiológico que confiere el Laboratorio de Microbiología Clínica.

Toda la información diagnóstica que el laboratorio de microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Este hecho es bien conocido por los microbiólogos, no obstante la mayoría de las muestras son obtenidas por otros profesionales de la salud en diversos servicios clínicos, por lo que es necesaria la educación continua de dicho personal sanitario, al que hay que advertir del gasto inútil y el error de los datos obtenidos a partir de un estudio realizado de forma inadecuada.

Asimismo el adecuado procesamiento de la muestra e interpretación de los cultivos es fundamental a los efectos de arribar a un diagnóstico etiológico correcto.

El **objetivo** de este trabajo es realizar una puesta al día de la forma de recolección, transporte, conservación de las principales muestras obtenidas para diagnóstico bacteriológico reseñando el material necesario, la técnica de obtención, volumen, número y transporte de cada una de ellas, según las distintas localizaciones y características especiales de aquellas o de los microorganismos a investigar. Por otro lado, se pretende dar lineamientos generales del procesamiento de dichas muestras así como de la interpretación de los hallazgos del examen directo y cultivo de las mismas.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Limitaciones de este manual: no se abarcó todas las muestras pero sí las más frecuentes que se reciben en un Laboratorio de Bacteriología. Se excluyeron específicamente muestras de origen genital. No se contemplan en este manual los cultivos para búsqueda de micobacterias, virus, hongos y parásitos.

1. Normas básicas generales

- Las muestras deben venir acompañadas de su respectiva solicitud de estudio, escrita o electrónica, donde deben llenarse todos los datos solicitados por el Laboratorio. **En todos los casos es imprescindible: 1) nombre completo, 2) número de Identificación del paciente, 3) edad, 4) sexo, 5) servicio, policlínica o internación 5) tipo de muestra enviada y localización anatómica del proceso infeccioso 6) 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 antimicrobiano. Cuando esto no es posible, se obtendrán justo antes de la administración de la dosis del antimicrobiano, o en líneas generales tras 48 horas de finalizado el tratamiento. En antibióticos con vida media muy larga, se debería tomar el criterio de obtención luego de transcurridas 5 vidas media.
- En líneas generales, en todas las localizaciones, es necesario que la recolección 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.”***
- Todas las situaciones no previstas en este manual deben ser consultadas con los especialistas



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

del Laboratorio antes de recolectar las muestras.

- En caso de no disponer de alguno de los sistemas de transporte recomendados, consultar de manera de poder instrumentar soluciones alternativas.

2. Criterios de rechazo de solicitudes y/o muestras

- Si las solicitudes y/o las muestras no cumplen los requisitos mínimos indispensables para su correcto procesamiento el laboratorio deberá aclarar las discrepancias con el servicio que las envió, previo a su procesamiento y en algunos casos será imposible el mismo hasta tanto se envíe la muestra correcta.

2.1 Criterios de rechazo

- Discrepancia entre la identificación del paciente que figura en la solicitud del examen y la que figura en el contenedor de la muestra. **Acción:** hablar con el Servicio que envió la muestra y no procesarla hasta que se solucione la discrepancia. Para muestras únicas (LCR, materiales quirúrgicos) se procesa pero no se enviará el informe hasta aclaración de la situación.
- No se indica en la solicitud de examen el tipo de muestra a analizar y/o procedencia anatómica del mismo. **Acción:** llamar al servicio que lo envió. No se procesa hasta tanto se conozcan esos datos, imprescindibles para la realización del estudio.
- Muestra enviada en frasco no estéril o con conservantes (formol). **Acción:** informar al servicio que lo envió y solicitar nueva muestra.
- Muestra enviada en envase o tubo con pérdida o derrame **Acción:** no procesar. Solicitar nueva muestra. Valorar esta acción en caso de muestras únicas.
- Muestra inadecuada para realizar el estudio solicitado. **Acción:** no procesar. Informar al servicio que la muestra es inadecuada y cual muestra deberá enviar.
- Cultivo anaerobio solicitado en exudado faríngeo, expectoración, orina, secreciones



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

vaginales, úlceras o fístulas entre otras. **Acción:** No procesar con este fin. Comunicarse con el servicio y explicar las razones.

- Muestra en cantidad insuficiente para realizar los exámenes solicitados: **Acción:** Solicitar muestra adicional y si no es posible, establecer prioridades de procesamiento en acuerdo con el médico tratante.
- Muestras repetidas por más de una vez en el mismo día, excepto hemocultivos. **Acción:** procesar una sola muestra por día y comunicarse al servicio para que justifique el procesamiento de las muestras restantes.
- Muestra evidentemente contaminada. **Acción:** descartar la muestra y solicitar otra.

3. Hemocultivos

El hemocultivo constituye una muestra microbiológica de suma importancia dado que permite la detección de **bacteriemia y fungemia**. Resulta fundamental que el procedimiento de extracción de sangre se realice cumpliendo las máximas precauciones de asepsia.

Constituye una (1) muestra de hemocultivo, la sangre obtenida de una única venopunción, inoculada en uno o más frascos o botellas. Una serie de hemocultivos corresponde al conjunto de muestras obtenidas en un período de 24 horas.

A. MATERIAL NECESARIO

- ligadura de goma
- jeringas y agujas de punción i/v
- gasas estériles
- guantes estériles
- alcohol etílico 70%
- clorhexidina alcohólica al 2%



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- frascos de hemocultivos (para adultos o pediátricos, según corresponda), los cuales deben prepararse antes de su utilización
- descartador de paredes rígidas.

B. PREPARACIÓN DE LOS FRASCOS

- Rotular con los datos filiatorios del paciente (nombre, apellido y número de registro).
- Rotular con fecha y hora de extracción (fundamental para interpretación de los resultados).
En frascos con código de barras, evitar escribir o pegar etiquetas sobre los mismos.
- Para quienes tienen sistema automatizado de incubación y detección de crecimiento, retirar las tirillas con el código de barras de los frascos y pegarlas en la hoja de solicitud de estudios bacteriológicos del paciente. Si la solicitud es electrónica, no aplica.

C. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA: VENOPUNCIÓN PERIFÉRICA

1. Quien va a realizar la extracción debe realizar higiene de manos previo al procedimientos.
2. Colocar ligadura en el paciente.
3. Palpar la vena a puncionar.
4. Realizar antisepsia con **alcohol 70%** en una zona de piel de 5 cm de diámetro alrededor del sitio de punción, realizando círculos concéntricos, desde adentro hacia fuera. Permitir que el alcohol se seque completamente (30 segundos).
5. Repetir la antisepsia de piel pero con **clorhexidina alcohólica al 2%**. En pacientes pediátricos se omite paso de clorhexidina y se repite antisepsia con alcohol 70%. Permitir que el antiséptico se seque completamente.

ATENCIÓN: no soplar para acelerar el secado del antiséptico, **no tocar el campo desinfectado sin guantes estériles**, ni hablar durante la maniobra, dado que esto contamina la piel preparada para la punción.

6. Mientras se espera secado, quitar la tapa plástica de la botella de hemocultivo y desinfectar el tapón de goma con alcohol 70%. Dejar secar.
7. Colocarse los guantes estériles.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

8. Extraer la sangre por punción venosa.
Inyectar directamente la sangre en el frasco de hemocultivo (no es necesario cambiar la aguja).
Si se utilizan frascos para cultivo aerobio y anaerobio, inocular primero la botella para aerobios y luego la de anaerobios.
9. Invertir la botella varias veces para mezclar.
10. Descartar la aguja en forma segura (contenedor de paredes rígidas).

D. VOLUMEN DE LA MUESTRA Y NÚMERO DE MUESTRAS

Una muestra de **hemocultivo** es el volumen de sangre extraído a partir de una **única venopunción**; independientemente del número de frascos que se inoculó con dicho volumen, constituye una **muestra única**.

Adultos:

Deben obtenerse dos muestras de hemocultivos. Cada muestra se inocula en uno o dos frascos, 10 ml en cada uno.

En caso de fiebre de origen desconocido o endocarditis bacteriana subaguda se pueden extraer hasta tres muestras de hemocultivos en 24 horas.

Neonatos, lactantes y niños: Recomendación de número de muestras y volumen de acuerdo a Cuadro

1.

		Volumen de sangre recomendado (ml)			
Peso (kg)	Volemia (ml)	Muestra 1	Muestra 2	Volumen total (ml)	% de volemia
≤1	50-99	2 ^a	-	2	4
1,1-2	100-200	2 ^a	2 ^a	4	4
2,1-12,7	> 200	4 ^a	2 ^a	6	3



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

12,8- 36,3	> 800	10 ^b	10 ^b	20	2,5
> 36,3	> 2200	20 ^b	20 ^b	40	1,8

^a Se pueden utilizar frascos pediátricos. ^b Se deben utilizar frascos para adultos. Tomado de: Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22-e121.

Cuadro 1: Recomendación de número de muestras y volumen de acuerdo al peso.

E. OPORTUNIDAD PARA LA TOMA DE MUESTRA

Idealmente la extracción debe realizarse antes del inicio de la **antibióticoterapia**. Cuando sea necesario realizar toma de hemocultivos durante tratamiento antibiótico, la misma debe realizarse durante el momento de mínima concentración del antibiótico (previo a la siguiente dosis).

El intervalo de tiempo entre hemocultivos no es un factor tan crítico en la detección del agente, como sí lo es el volumen. Las muestras pueden separarse por un intervalo de 20 a 60 minutos, según la situación clínica del paciente. Si la condición exige el inmediato inicio del tratamiento antibiótico, se recomienda la extracción de dos muestras de hemocultivos, en forma **simultánea**, **SIEMPRE** de **diferentes sitios de venopunción**.

F. MICROORGANISMOS ESPECIALES

En caso de sospechar determinados microorganismos (*Brucella sp.*, otros microorganismos de crecimiento lento, hongos, etc.) se recomienda contactarse previamente con el Laboratorio de Microbiología y establecerlo en la solicitud. Para micobacterias debe inocularse la sangre en botellas especiales para tal fin.

3.1 Hemocultivos extraídos por vías venosas centrales (Retrocultivos)

En caso de querer realizar diagnóstico de **bacteriemia relacionada a catéter (BRC)** se pueden seguir dos procedimientos:



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

1. Extracción de dos muestras de hemocultivo por punción venosa periférica de dos sitios diferentes de punción, más extracción posterior del catéter sospechoso y envío de su punta para cultivo. (Recomendado para catéteres de corta permanencia)
2. Muestras pareadas: Extracción de sangre por venopunción periférica y a través del catéter venoso central, en **igualdad de volumen** y con un **intervalo** entre ambas muestras **menor a 5 minutos**, empezando por la venopunción periférica. Cada muestra debe colocarse en diferentes frascos de hemocultivo, consignando tanto en los frascos como en la boleta de solicitud cuál es la muestra extraída por catéter central (también llamada **RETROCULTIVO**) y cuál por vena periférica. (Recomendado para catéteres de larga permanencia : 30 días o más).

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA: RETROCULTIVO

1. Lavarse las manos.
2. Desinfectar la llave del catéter pasando dos torundas separadas embebidas en alcohol 70%. Dejar secar.
3. Quitar la tapa plástica del/los frasco/s de hemocultivo y desinfectar el tapón de goma con alcohol 70%. Dejar secar.
4. Colocarse guantes estériles.
5. Quitar el tapón de la llave y conectar la jeringa.
6. Opcional: extraer 3 ml de sangre (pacientes adultos) o 0,2 ml (pacientes pediátricos) y descartar.

NOTA: No realizar toma de retrocultivo en la hora posterior a la administración de antibióticos por dicho catéter.

7. Si se realizó paso 6, con una nueva jeringa extraer la sangre para cultivo.
8. Colocar la aguja a la jeringa e inyectar la sangre en el frasco de hemocultivo.
9. Invertir la botella varias veces para mezclar.
10. Descartar la aguja en forma segura (contenedor de paredes rígidas).

PROCESAMIENTO DE HEMOCULTIVOS



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Los frascos de sistema manual se incuban en estufa de cultivo a 35°C y los frascos de sistema automatizado en el sistema de incubación correspondiente. Las botellas en sistema manual se sub-cultivan a ciegas a las 18 horas de incubación y las incubadas en sistema automatizado, una vez avisaron positivas.

Sub-cultivos

Materiales y medios de cultivo

- Jeringa estéril
- Guantes de látex
- Alcohol al 70%
- Contenedor rígido de material contaminado
- Placas de agar chocolate (Achoc) y agar sangre (AS)

Procedimiento

Los sub-cultivos se deben realizar en cabina de bioseguridad o cerca de un mechero de Bunsen.

Si no se usa cabina, es recomendable utilizar protección facial y además siempre se deben utilizar guantes.

1. Para realizar los sub-cultivos desinfectar la tapa de goma del frasco frotando intensamente con alcohol al 70%. Esperar que se seque. Mientras tanto homogeneizar el frasco.
2. Colocarse los guantes. Tener cuidado con la cercanía al mechero.
3. Con una jeringa estéril, extraer a través del tapón una muestra de sangre de aproximadamente 1 ml. Descartar la aguja en recipiente para residuos corto-punzantes.
4. Inocular una gota de la muestra de sangre en un extremo de la superficie de las placas de Achoc y AS. Se pueden agregar otros medios de cultivo según hallazgos de la tinción de Gram.
5. Colocar otra gota sobre una lámina portaobjetos para hacer frotis y coloración de Gram.
6. Utilizando el ansa de siembra y tomando como referencia central el inóculo de la muestra, realizar la siembra por agotamiento en los cuatro cuadrantes de la placa, con el propósito de obtener colonias aisladas.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

7. Incubar las placas de Achoc y AS a 35°C en atmósfera enriquecida en CO₂ por 24 horas.
8. Observar la lámina coloreada y buscar la presencia de bacterias o levaduras.
9. Si no hay crecimiento a las 24 horas seguir incubando hasta por 48 horas, de acuerdo con hallazgos de tinción de Gram.

Existen disponibles en el mercado pruebas de identificación, técnicas de detección de mecanismos de resistencia y estudios de sensibilidad, directamente, a partir de las muestras de caldo de botellas de hemocultivo. Las hay de carácter fenotípico y genotípico. Cada Laboratorio deberá proceder a verificar las mismas y evaluar el costo-beneficio de su utilización. En las citas bibliográficas 7-10 pueden ver algunos de ellos.

Aislamientos más frecuentes: enterobacterias, *S.aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* sp., *Candida* sp.

Lectura de subcultivos y reporte de resultados

Si las botellas permanecen negativas, se reporta: sin desarrollo por 5 días o por el tiempo que se hayan incubado.

Se debe reportar al médico tratante los resultados de la tinción de Gram, lo antes posible especialmente, si las dos muestras son positivas.

Cuando una de las dos muestras o una muestra única desarrolla *Staphylococcus coagulasa* negativo, *Streptococcus* grupo viridans, *Bacillus* sp., corinebacterias o *Micrococcus* sp se realizará identificación mínima y no se realiza estudio de sensibilidad. Los cultivos y botella se guardan por si el médico tratante considera necesario más estudios. Se recomienda informar con comentario que diga: “Una de las muestras positiva con germen habitual de piel. No se realizó estudio de sensibilidad. Contacte al laboratorio si requiere más información.”



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

La presencia de *Staphylococcus coagulasa* negativo u otros gérmenes de piel en las dos muestras obliga a realizar identificación y estudio de sensibilidad de ambos aislamientos para poder elaborar el informe. Si son la misma especie con idéntico perfil de sensibilidad se considera significativo de infección, siempre que se trate de dos muestras reales y no de una sola muestra colocada en dos frascos. De todas maneras, aun en esta situación los hallazgos podrían llegar a representar una contaminación, dependiendo del agente aislado y la situación clínica del paciente.

Otros microorganismos diferentes a los antes nombrados se reportan como significativos, estén en una o en las dos muestras extraídas.

Para el caso de los hemocultivos diferenciales, el crecimiento del mismo microorganismo en las 2 muestras (catéter y vena periférica) sumado a que la muestra extraída por el catéter avisa positiva, por lo menos, 2 horas antes que la muestra extraída por vena periférica se interpreta como bacteriemia a punto de partida del catéter. En los catéteres de corta permanencia (< 30 días) la sensibilidad y especificidad reportada para esta metodología diagnóstica es 81 y 92%, respectivamente. Si el paciente está recibiendo antibióticos tiene baja especificidad (29%).

4. Catéteres intravasculares

El estudio bacteriológico de los catéteres intravasculares solo debe realizarse cuando se sospecha **bacteriemia asociada al catéter**.

El diagnóstico de **bacteriemia asociada al catéter** requiere la documentación de bacteriemia, y por tanto **NO debe remitirse** al laboratorio **puntas de catéter para cultivo sin hemocultivos acompañantes**.

Carece de valor clínico cultivar rutinariamente las puntas de catéteres intravasculares en el momento de su remoción, y por tanto **no** debe realizarse.

A- MATERIAL NECESARIO



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- frasco estéril de boca ancha
- guantes estériles
- gasas estériles
- pinzas, tijeras y/o bisturí estériles
- frasco estéril de boca ancha y tapa rosca
- alcohol etílico o isopropílico al 70%

B- TÉCNICA

- Rotular un frasco estéril con los datos filiatorios del paciente, el tipo de catéter y la ubicación anatómica del mismo.
- Lavarse las manos.
- Realizar antisepsia con alcohol 70% en una zona de piel de 10 cm correspondiente a la zona de entrada del catéter. Dejar secar.
- Colocarse los guantes.
- Retirar el catéter con la máxima asepsia utilizando instrumental estéril y evitando que tome contacto con la piel.
- Mantenerlo sobre un recipiente estéril de boca ancha y con ayuda tijeras o bisturí estériles, cortar los 5 cm distales del catéter de manera que caigan dentro del recipiente.
- NOTA: No agregar suero fisiológico ni ningún tipo de medio de transporte.
- Tapar el frasco para evitar la desecación.

PROCESAMIENTO DE CATÉTERES INTRAVASCULARES

Laboratorio: materiales y medio de cultivo

- Pinza estéril y placa de AS.

Procedimiento de siembra

- La placa de AS debe estar a temperatura ambiente.
- Flamear la pinza y dejar enfriar.
- Colocar el segmento del catéter sobre la superficie del agar.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Rodar la porción del catéter a través de la placa, de manera que toda su superficie tome contacto con el agar, mientras se ejerce una ligera presión hacia abajo con la pinza.
- Incubar la placa a 35°C y buscar el crecimiento a las 24, 48, 72 y 96 horas.

Lectura de cultivos

Realizar el recuento de colonias.

Identifique por lo menos hasta nivel de género y reporte los microorganismos con recuentos mayores de 15 ufc.

Para los recuentos menores o iguales a 15 ufc: identifique y reporte solo microorganismos significativos como *Candida albicans*, *Streptococcus pyogenes* o bacilos Gram negativos.

Guarde las placas hasta 5 días para comparar con aislamientos de hemocultivos.

Dado que la contaminación de la punta de catéter es debido a la formación de biofilm en el mismo, diferentes morfotipos del mismo organismo (2 o más especies de *Staphylococcus coagulasa* negativo) se pueden recuperar de la sangre y del catéter. Estos morfotipos pueden tener diferente perfil de sensibilidad y la terapia se debe dirigir al más resistente.

Si el recuento es muy alto, reportar más de 100 ufc.

Los estudios de sensibilidad antibiótica se deben realizar en aquel agente que se encuentra en las dos muestras: hemocultivo(s) y catéter.

La presencia de más de 15 ufc sugiere al catéter como fuente potencial de bacteriemia. Sin embargo, esto solo ocurre en alrededor del 10% de los catéteres contaminados. Si solo se envió el catéter a cultivar y no se enviaron hemocultivos, se informa el resultado pero se solicita la realización de hemocultivos. **Limitaciones de la técnica de Maki:** Muy baja especificidad para el diagnóstico de bacteriemia por catéter y no detecta contaminaciones del lumen (interior) del catéter.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

5. Urocultivo

Siempre que sea posible recoger la muestra previo al inicio de la terapia antibiótica. Siempre indicar en la boleta de solicitud de estudio el método de obtención de la orina (chorro medio, cateterización, punción de sonda vesical, punción suprapúbica, cistoscopia, etc.) y características clínicas del paciente (embarazo, inmunodepresión, síntomas o no, etc) ya que esto condiciona la interpretación del cultivo.

No se procesan:

- Muestras obtenidas de la bolsa colectora en pacientes sondados;
- Puntas de catéter urinario,
- Muestras del mismo paciente con menos de 48 horas de diferencia. Se considera muestra duplicada.

Indicaciones de realización de urocultivo:

- Pacientes con síntomas y/o signos de IU;
- En el marco del control de embarazo;
- Previo a instrumentación de la vía urinaria (no sonda vesical),
- Control de los pacientes post trasplante renal reciente.

En Uruguay, de acuerdo a normativas de entidad financiadora de procedimientos de alto costo, se realiza también urocultivo en las siguientes situaciones:

- Previo a una cirugía con colocación de implante,
- Previo a cirugía cardíaca.

5.1 Recolección por técnica de chorro medio

Es de elección recoger la primera orina de la mañana, en su defecto se deberá tener por lo menos 4 horas de retención para evitar falsos negativos.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

No forzar la ingesta de líquidos para obtener la micción ya que esto disminuye el recuento de colonias por ml.

A- MATERIAL NECESARIO

- Jabón
- Frasco estéril con boca ancha y con tapa rosca, cierre hermético

B1- TÉCNICA PARA MUJERES

- Lavar con agua y jabón la zona vulvar de adelante hacia atrás.
- Enjuagar cuidadosamente con agua para eliminar los restos de jabón.
- Separar los labios mayores y menores, y mantenerlos separados en todo momento hasta que se haya recogido la orina.
- Orinar desechando el primer chorro, 20-25 primeros mililitros, y luego **sin interrumpir la micción**, recoger la orina de mitad de micción en el recipiente estéril de boca ancha. Retirar frasco después de colectar 15-20 ml. Continuar la micción.
- El frasco debe sujetarse por fuera, evitando tocar el borde o el interior del mismo. Cerrar herméticamente, inmediatamente después de finalizar la recolección de orina .
- Rotular el frasco (no la tapa) con nombre y número de identificación.

B2- TÉCNICA PARA HOMBRES

- Retraer completamente el prepucio, que se mantendrá así en todo momento, hasta que se haya recogido la orina.
- Con una gasa enjabonada lavar bien el glande.
- Enjuagar cuidadosamente con agua para eliminar los restos de jabón.
- Indicar al paciente que orine desechando el primer chorro, 20-25 primeros mililitros, y luego **sin interrumpir la micción**, recoger la orina de mitad de micción en el recipiente estéril de boca ancha. Retirar frasco después de colectar 15-20 ml. Continuar la micción.
- El frasco debe sujetarse por fuera, evitando tocar el borde o el interior del mismo. Cerrar herméticamente, inmediatamente después de finalizar la recolección de orina .



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Rotular el frasco (no la tapa) con nombre y número de identificación.

5.2 Recolección en el paciente con sonda vesical

A- MATERIAL NECESARIO

- Gasas o algodón
- Alcohol 70% o yodo povidona 10%
- Jeringa y aguja estéril
- Frasco estéril con boca ancha y cierre hermético

Cuando se sospecha presencia de IU en paciente con sonda vesical se debe cambiar la sonda vesical y colocar sonda de látex. Realizar la toma de muestra luego del recambio de la sonda. Nunca enviar muestra obtenidas de la bolsa.

B- TÉCNICA:

- Pinzar la sonda a 10 cm del meato durante unos segundos.
- Sin despinzar, desinfectar la sonda con alcohol 70%, a 3-4 cm por encima de la pinza.
- Extraer aproximadamente 10 ml de orina puncionando la sonda con aguja y jeringa.
- Colocar la orina en frasco estéril.
- Rotular frasco (no la tapa) con nombre y número de identificación.

5.3 Recolección por cateterización vesical

Especialmente indicada en lactantes, pacientes sin control esfinteriano o pacientes con urocultivos polimicrobianos a repetición en quienes se sospecha fuertemente IU.

La técnica debe ser realizada por personal entrenado y con técnica aséptica para evitar la introducción de microorganismos en la vejiga.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Una vez introducida la sonda, desechar los 15-30 ml iniciales de orina y recoger el flujo siguiente en un frasco estéril.

5.4 Recolección por nefrostomía u otros dispositivos de derivación urinaria

Seguir procedimiento de extracción de muestra indicado por médico tratante.

5.5 Recolección por punción suprapúbica

Muestra excepcional

A- INDICACIONES: niños, evidencia clínica de IU con recuentos bajos o nulos, resultados de cultivos de orina obtenidos por otros métodos difíciles de interpretar y cuando se sospechan como causa de infección bacterias anaerobias.

La punción suprapúbica es un procedimiento médico y requiere un buen conocimiento de la técnica y de las precauciones que hay que adoptar. Deben descartarse problemas de hemostasia y la vejiga debe ser palpable.

B- TÉCNICA:

- Realizar antisepsia de la piel y anestesia local.
- Puncionar la vejiga a 1,5 cm de la sínfisis pubiana, en la línea media, estando el paciente en decúbito supino, con una jeringa de 10 ml y con aguja larga (calibre 19).
- Aspirar el contenido vesical y colocar la muestra en frasco estéril.
- Rotular el frasco (no la tapa) con nombre y número de identificación.
- Si se sospecha IU por bacterias anaerobias la muestra debe ser enviada inmediatamente al laboratorio y consignar la sospecha para que la muestra sea procesada inmediatamente de manera adecuada.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

C- VOLUMEN MÍNIMO DE LA MUESTRA

Es suficiente un volumen de orina de 5-10 ml.

D- OBSERVACIONES

Para la búsqueda de micobacterias, la orina debe recogerse por técnica de chorro medio, durante mínimo tres, máximo seis, días consecutivos. Se recogerá la primera micción de la mañana y el volumen de orina no debe ser inferior a 50 ml por muestra.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE UROCULTIVO

Materiales y medios de cultivo necesarios

- Ansa calibrada de cromo níquel o descartable de 0,01 ml
- Placas de AS y agar Mc Conkey lactosa (McL) o *cystine lactose electrolyte deficient* (CLED). Se pueden utilizar otros medios diseñados específicamente para urocultivos (cromogénicos).

Procedimiento de siembra

- Mantener las muestras en refrigeración (4°C) hasta su procesamiento por cultivo.
- Los cultivos se deben realizar cerca del mechero de gas.
- Las placas que se utilizarán en la siembra deben estar a temperatura ambiente y sin evidencia de humedad.
- Rotular las placas con identificación del paciente y fecha o colocar etiquetas de código de barras que emite el LIS del Laboratorio.
- Esterilizar el ansa flameando en el mechero hasta que se ponga rojo vivo. Dejar enfriar. Alternativamente utilizar ansa estéril descartable.
- Tomar el frasco con la muestra de orina, homogeneizar rotando ligeramente la muestra y luego abrir la tapa.
- Tomar muestra de orina con el ansa estéril introduciéndose en forma perpendicular a la orina. Retirar el ansa del frasco en forma vertical (no inclinar).
- Tapar el frasco con la muestra.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Inocular las placas con la técnica de aislamiento que se prefiera. Primero se inocula el medio no selectivo y luego el selectivo o diferencial.
- Esterilizar el asa de siembra en el mechero.
- Incubar las placas a 35°C en condiciones aeróbicas por al menos 18 horas.

Tinción de Gram

Es de utilidad en los casos de sepsis de origen urinario pero solo se realizará en caso de que esto sea solicitado o que esto sea decidido por el microbiólogo para casos puntuales ya que brinda buena aproximación al diagnóstico en pocos minutos.

Se colocan 10 µl de orina no centrifugada en un portaobjetos y se deja secar al aire sin tocar.

Observar con el objetivo de inmersión. La observación de una bacteria por campo se correlaciona con bacteriuria cuantitativa superior a 100.000 ufc/ml de orina. La observación de diferentes morfologías bacterianas y células epiteliales sugiere contaminación al tomar la muestra.

Aislamientos más frecuentes: enterobacterias, *P. aeruginosa*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* sp., *Candida* sp.

Lectura e interpretación de cultivos

- Realizar la lectura a las 18-24 horas.
- Aquellas muestras que muestran escaso desarrollo o provienen de pacientes inmunocomprometidos deberán ser incubadas hasta 48 horas.
- Lo primero es observar si el cultivo está puro (monomicrobiano) o no.
- Luego se realiza el recuento aproximado de las colonias y se multiplica por el factor de dilución (en el caso del ansa de 0,01 ml, es 100 para expresarlo por 1 ml).
- La interpretación de los recuentos se realiza de acuerdo al Cuadro, debajo.
- La presencia de dos microorganismos raramente es significativa de IU pero deberá corroborarse con los datos clínicos del paciente.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- La técnica habitualmente tiene como límite de detección 10^3 ufc/ml. Algunos autores confieren valor a recuentos menores a este límite.
- En todos los casos, el aislamiento de tres o más morfologías coloniales indican que la muestra se ha contaminado por recolección inadecuada o demora en la siembra sin las condiciones adecuadas de almacenamiento. Se deberá repetir solo si el médico tratante lo considera necesario.

	1 uropatógeno	2 uropatógenos	3 uropatógenos
Chorro medio	<10.000ufc/ml - identificación mínima	Para cada uno < 100.000 ufc/ml - identificación mínima	Desarrolla flora polimicrobiana
+ origen comunitario	≥ 10.000 ufc/ml (o ≥ 1000 ufc/ml para mujeres de 14 a 30 años)	Para cada uno \geq 100.000 ufc/ml	Desarrolla flora polimicrobiana
+ menor de 65 años	ID + AST	ID + AST	
Muestras por catéter a permanencia	< 10.000 ufc/ml- identificación mínima	Para cada uno <100.000 ufc/ml - identificación mínima	Desarrolla flora polimicrobiana
o Chorro medio mayor de 65 años	≥ 10.000 ufc/ml ID + AST	Para cada uno ≥ 100.000 ufc/ml	Desarrolla flora polimicrobiana
o internados	IDSA: catéter ≥ 1000 ufc/ml	ID + AST	
Muestras por catéter in and out	100- 1000 ufc/ml con flora de piel o urogenital- identificación mínima	Para cada uno < 1000 ufc/ml- identificación mínima	Para cada uno < 10.000 ufc/ml- identificación mínima
o Punción suprapúbica	≥ 1000 ufc/ml ID + AST	Para cada uno ≥ 1000 ufc/ml	Para cada uno ≥ 10.000 ufc/ml



redEMC
Infectología



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



o		ID + AST	ID + AST
citoscopia			Contactar médico

Tomado y traducido de Urine Cultures. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2010. ASM Press.

Cuadro 2: Guía de interpretación de urocultivos.

Informe

- Cuando se decidió estudiar uno o dos microorganismos se informa su recuento, identificación y resultados de estudio de susceptibilidad.
- Para los cultivos sin desarrollo bacteriano se puede informar: desarrollo menor a 100 ufc/ml o menor a 1000 ufc/ml de acuerdo al volumen de siembra.
- Si solo crece flora polimicrobiana urogenital o de piel, reportar: “Recuento de... ufc/ml de flora urogenital o de piel” según corresponda.
- Si se observan tres o más morfologías coloniales reportar: “Múltiples morfotipos bacterianos presentes. Probable contaminación. Si está indicado, repetir siguiendo estrictamente las recomendaciones de higiene y de obtención de la muestra.”
- Cuando se observa inhibición bacteriana en el primer cuadrante de siembra, no informar recuento y reportar: “Imposible realizar recuento adecuado debido a inhibición por presencia de antibióticos”.

5.6 Detección de antígeno neumocócico en orina

Se utiliza la misma muestra que para urocultivo.

Esta técnica es de utilidad en pacientes con diagnóstico de NAC confirmado radiológicamente y con criterios de neumonía severa. En otras poblaciones su sensibilidad es baja (11-12).

Se procesa de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

6. Líquido cefalorraquídeo

6.1 LCR por punción lumbar

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO

- Campos estériles.
- Guantes estériles.
- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Alcohol con clorhexidina
- Jeringas de 5-10 ml.
- Agujas de punción IM.
- Trócares de punción lumbar.
- Tubos cónicos limpios y estériles con tapón de rosca. (No reutilizados)

B. TECNICA

- Se obtendrá, en lo posible, antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.
- Quien realice la maniobra de recolección de la muestra deberá lavarse las manos, previo al procedimiento, colocarse sobretúnica y guantes estériles.
- Se localiza la zona elegida para la punción lumbar mediante palpación de los espacios intervertebrales una vez colocado el paciente en la posición adecuada.
- Se desinfecta con alcohol al 70% una zona de uso 10 cm de diámetro en el área elegida, la aplicación del desinfectante se hace de forma concéntrica del centro a la periferia.
- Se coloca campo estéril.
- Se repite la operación con clorhexidina alcohólica que se deja secar.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Realizar la punción entre los espacios intervertebrales L3-L4, L4-L5 o L5-S1, siguiendo las normas de la más estricta asepsia.
- Al llegar al espacio subaracnoideo retirar el estilete y dejar salir libremente el líquido cefalorraquídeo que se recogerá en tres tubos. El primer tubo es el que debe enviarse para el estudio bioquímico, el segundo para el estudio microbiológico y el tercero para investigación de células (este suele ser el más transparente aunque la punción haya sido traumática). No obstante, el tubo más turbio se enviará a Microbiología. De solo contar con un tubo, preferentemente primero debe procesarse en el sector de microbiología para luego pasarlo para el estudio bioquímico y citológico, evitando así posible contaminación a la hora de manipular la muestra.

6.2 LCR obtenido de derivaciones externas e internas

- Se obtendrá en lo posible antes de instaurar cualquier terapéutica antibiótica.
- Previo a la obtención se debe realizar desinfección del sitio desde donde se va a realizar la toma para evitar introducir microorganismos desde exterior.
- En las derivaciones externas, el LCR se obtendrá a través del catéter ventricular o lumbar.
- En las internas, el LCR se obtendrá habitualmente mediante punción del reservorio.
- El resto de las condiciones son iguales a las muestras tomadas por punción lumbar.

Derivación externa	Catéter colocado en el espacio intraventricular sin sistema valvular y en conexión con el exterior. Son temporales. Permiten monitorización y control de la PIC. Indicados en hidrocefalias agudas, hemorragia intraventricular y para medición de PIC. También se utilizan para administración de fármacos, en fístulas de LCR para favorecer su cierre y en infecciones de <i>shunts</i> , como paso intermedio antes de colocar la nueva derivación.
Derivación interna	Sistemas permanentes internalizados. Constan de un catéter proximal y otro distal multiperforados y un dispositivo valvular unidireccional entre ambos. Válvula alojada junto a reservorio que permite la toma de muestras de LCR. Clasificación de <i>shunts</i> , según dónde se alojen catéteres proximal y distal: a) <i>Shunt</i> ventrículo-peritoneal (SVP): el LCR ventricular es drenado en la cavidad peritoneal. Es el más frecuente. Se utiliza en las



redEMC
Infectología



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

hidrocefalias obstructivas. *b) Shunt* ventrículo-atrinal (SVA): el LCR es drenado en la aurícula derecha. Se coloca en casos seleccionados de hidrocefalias obstructivas en los que la cavidad peritoneal no se puede utilizar. *c) Shunt* ventrículo-pleural: el LCR ventricular es drenado a la cavidad pleural. Tiene las mismas indicaciones que el SVA, aunque se utiliza menos. *d) Shunt* lumbo-peritoneal (SLP): se utiliza en hidrocefalias comunicantes y fístulas del LCR. Drena el LCR desde el espacio espinal a la cavidad peritoneal.

SNC: sistema nervioso central; PIC: presión intracraneana; LCR: líquido cefalorraquídeo. Tomado de: Jiménez-Mejías ME, García-Cabrera E. Infecciones relacionadas con los sistemas de drenaje de líquido cefalorraquídeo. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26: 240-51

Cuadro 3: Tipos de dispositivos de derivación de LCR.

C. VOLUMEN MÍNIMO

- Para el estudio bacteriológico rutinario es suficiente 1 ml, aunque es preferible disponer de volúmenes superiores.
- Para hongos o micobacterias se necesitan al menos 2 ml adicionales por cada uno.
- Para estudio de virus se necesita por lo menos 1 ml más.

D. OBSERVACIONES

Como la meningitis suele surgir por un proceso bacteriémico se solicitarán simultáneamente hemocultivos, pudiendo ser así mismo estudiadas las posibles lesiones metastásicas cutáneas.

Las muestras derramadas deben procesarse de cualquier manera constatándose en boleta de solicitud para interpretación de posibles cultivos contaminados.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE LCR

Materiales y medios de cultivo necesarios

Pipeta Pasteur estéril

Placas de A choc y AS

Portaobjetos



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Caldo de enriquecimiento (TSB o BHI)

Procesamiento:

- Procesar inmediatamente la muestra llega al Laboratorio.
- Registrar volumen del líquido y aspecto (claro, sanguinolento, turbio, xantocrómico)
- Debe procesarse, en lo posible, en cámara de bioseguridad para proteger a la muestra de posible contaminación y para proteger al personal que procesa la misma.
- Las placas que se utilizarán en la siembra deben estar a temperatura ambiente y sin evidencia de humedad.
- Tomar muestra de LCR del fondo del tubo con pipeta Pasteur estéril e inocular las placas con 2 gotas de LCR.
- Utilizar la técnica de aislamiento en cuatro cuadrantes, flambeando o cambiando de ansa entre placas de medio de cultivo y al finalizar procedimiento.
- Inocular caldo de enriquecimiento con remanente de LCR utilizando pipeta Pasteur estéril
- Realizar dos laminas para tinción de Gram mediante citocentrifugación
- Alternativa, si LCR es turbio, colocar 1 o 2 gotas de LCR en cada lámina y dejar secar.
- Teñir una de las láminas con tinción de Gram. Reservar la otra lámina en caso de necesitarla.
- Cuando se recibe volumen escaso de LCR (menos de 0,3 ml), ver si se puede obtener más volumen de otros sectores del Laboratorio. Si no es posible, confeccionar una lámina para Gram con una gota. Con pipeta Pasteur estéril colocar 0,5 ml de caldo en el tubo de la muestra y utilizar esto para siembra de placas y caldo de enriquecimiento.
- Incubar las placas a 35°C en atmósfera enriquecida en CO₂. El caldo se incuba en atmósfera aerobia a la misma temperatura.

Interpretación del examen directo

Se examinará todo el preparado en busca de leucocitos (polimorfonucleares o linfocitos) y bacterias. Se informará inmediatamente en el sistema informático y telefónicamente al médico tratante la presencia de cualquier morfología bacteriana presente en un LCR. Consignar fecha, hora y nombre del médico con el cual se comunicó telefónicamente en la boleta de solicitud.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Interpretación de los cultivos:

A las 24 hs. deben examinarse para determinar la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano.

a. Sin desarrollo

Si en los cultivos no existe presencia de bacterias deben reincubarse en atmósfera enriquecida en CO₂ 96 h.

El caldo de enriquecimiento debe examinarse diariamente, por al menos 4 días, en busca de crecimiento macroscópico (turbidez).

Si la tinción de Gram fue positiva y no se observa crecimiento en ningún medio de cultivo o se pide búsqueda de hongos incubar al menos 7 días.

b. Con desarrollo

Si hay desarrollo en los cultivos primarios se debe notificar inmediatamente al médico tratante con la identificación presuntiva (Gram, catalasa, oxidasa, etc.) y realizar la identificación definitiva con su estudio de sensibilidad correspondiente.

Si hay evidencia de desarrollo en el caldo de enriquecimiento (turbidez), se realiza Gram del caldo y se realiza en AS y Achoc (atmósfera enriquecida en CO₂ a 35°C).

No realizar identificación si la colonia es una clara contaminación de la placa o es un SCN aislado solamente del caldo de enriquecimiento. NOTA: SCN o *Corynebacterium* son casi siempre contaminación en pacientes que provienen de la comunidad pero pueden ser causa de infección en pacientes con derivaciones, traumatismo encefalocraneano o pacientes en postoperatorio neuroquirúrgico.

Neonato	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
---------	---



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Menor de 2 meses	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
Menor de 10 años	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Adulto	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>
Adulto mayor	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , bacilos Gram negativos, <i>Listeria monocytogenes</i>
Meningitis asociadas a derivaciones o ventriculitis	<i>Staphylococcus</i> spp. coagulasa negativos, <i>Staphylococcus aureus</i> , bacilos Gram negativos, <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Corynebacterium</i> spp.

Cuadro 4: Agentes más frecuentes de meningitis aguda.

7. Otros líquidos biológicos: peritoneal, ascitis, pericárdico, pleural, articular, etc.

En este apartado trataremos los líquidos orgánicos habitualmente estériles, salvo LCR. La toma de muestra (paracentesis, pericardiocentesis, toracentesis, artrocentesis, amniocentesis, etc.) es un procedimiento médico que requiere su realización en estrictas condiciones de asepsia de manera de obtener una muestra adecuada para el examen microbiológico. No contemplamos el procesamiento de líquido peritoneal asociados a diálisis peritoneal.

A. MATERIAL NECESARIO

- Campos estériles.
- Gasas estériles.
- Guantes estériles.
- Jeringas y agujas estériles. No se deben utilizar jeringas heparinizadas, pues la heparina lleva conservantes que pueden interferir la viabilidad de los microorganismos.
- Alcohol con clorhexidina
- Tubos estériles.
- Alcohol etílico al 70%.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Botellas de hemocultivos.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Varía la forma de obtención, dependiendo del líquido corporal que se trate, pero siempre deberá seguirse una técnica rigurosamente aséptica. La muestra se obtiene por punción. En lo posible se obtendrán las muestras antes de comenzar el tratamiento antibiótico.

- Realizar antisepsia de piel con alcohol, haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro alrededor del sitio a puncionar. Repetir el paso anterior con clorhexidina alcohólica dejando secar durante un minuto. En general se coloca un campo estéril, fenestrado.
- La recolección se hace por punción percutánea de forma aséptica para evitar la contaminación por la flora cutánea o ambiental.
- Se coloca el material aspirado en un tubo estéril, de tapa hermética correctamente rotulado. De preferencia utilizar SPS como anticoagulante dado que la heparina, EDTA y citrato pueden inhibir el crecimiento de algunos organismos fastidiosos. Si el líquido corresponde a un líquido articular o líquidos peritoneales provenientes de peritonitis primaria (pacientes en diálisis peritoneal o con sospecha de peritonitis bacteriana espontánea) inocular, además, botellas de hemocultivo al lado del paciente.

C. VOLUMEN MÍNIMO

En el caso que se utilicen botellas de hemocultivo deben inocularse hasta 10 ml en una botella de hemocultivo aerobio y preferentemente hasta 10 ml en una anaerobia al momento de la toma de muestra. Esta técnica de siembra es la que posee mayor tasa de recuperación de agentes de peritonitis primaria en pacientes con ascitis (14).

Para los demás líquidos es suficiente el envío de 5 a 10 ml. Cuando se requiera la investigación de micobacterias u hongos se enviará un volumen adicional de 10 ml.

D. OBSERVACIONES



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Cuando se utilice anestesia local, hay que cambiar de jeringa y aguja para hacer la extracción de la muestra, ya que los anestésicos pueden inhibir el crecimiento bacteriano.

Las muestras obtenidas de drenajes son desaconsejadas. y nunca debe inocularse en botellas de hemocultivo por la alta probabilidad de contaminación luego de los dos a tres días de colocado el drenaje.

Las muestras derramadas deben procesarse constatándose en boleta de solicitud para interpretación de posibles cultivos contaminados.

7.1 Procesamiento de muestras de líquidos biológicos

Materiales y medios de cultivo necesarios

Placas AS, Achoc y McL

Medios líquidos: botellas de hemocultivo, TSB y/o caldo Thioglicolato.

Ansa estéril.

Pipetas Pasteur estéril.

Portaobjetos o láminas limpias.

Procesamiento:

Procesar la muestra apenas llega al laboratorio. Corroborar datos del paciente. De preferencia procesar en cabina de bioseguridad.

Anotar: volumen de la muestra, apariencia macroscópica, color, viscosidad, presencia de coágulos.

Inocular los medios sólidos (ver Cuadro 5) con 2 a 3 gotas de la muestra con pipeta Pasteur estéril y estriar en cuatro cuadrantes. Alternativamente usar ansa estéril.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Incubar AS y Achoc a 35°C en atmósfera enriquecida con CO₂. El agar MacConkey se incuba en atmósfera ambiental.

Inocular con pipeta Pasteur estéril un caldo de thioglicolato y/o TSB. (Ver Cuadro 5) Idealmente con 1 ml. En los líquidos peritoneales provenientes de peritonitis primarias (si no se realizó a los pies del paciente) se prefiere inocular botella de hemocultivo respetando volúmenes recomendados por el fabricante.

Los medios sólidos y líquidos se incuban hasta 4 días.

Sembrar una placa de AS e incubar en anaerobiosis con 2-3 gotas de líquido con pipeta Pasteur estéril (o ansa) si es solicitado por el médico, si lo sugiere el directo y si la muestra fue transportada en forma anaerobia.

Preparar directo con coloración de Gram con 1-2 gotas del líquido. Dejar secar al aire en cabina de bioseguridad. Fijar y colorear. (Se recomienda centrifugar previamente la muestra en caso de líquidos claros no viscosos por 5 minutos a 2500 rpm).

	AS	ACHoc	McL	TSB	Thioglicolato	Botellas de hemocultivo	Observaciones
Líquido pleural	X	X		X			Se añade Thio y cultivo anaerobio en caso de muestras purulentas o examen directo sugestivo de anaerobios.
Líquido peritoneal (peritonitis)	X		X		x		Sembrar agar chocolate en peritonitis de



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

secundarias)							origen ginecológico.
Líquido de ascitis	X	x	X			X	
Líquido articular	x	x		x		x	
Líquido pericárdico	x	X		x		x	

Cuadro 5: Guía de utilización de medios de acuerdo a tipo de líquido.

Interpretación y reporte

Cuando los cultivos son negativos se reporta sin desarrollo y se especifica el número de días que se incubó.

En cada líquido se aíslan distintos MO característicos, en los cuales no entraremos en detalle.

Los hallazgos del examen directo se deben correlacionar con los hallazgos de los cultivos. En general se identifican los MO encontrados en el examen directo o aquellos que crecen en forma pura con un líquido que muestra reacción inflamatoria.

En los casos de cultivos con más de 3 tipos de colonias, se reporta y describe la flora encontrada. En el caso que el paciente haya recibido antibióticos y se sospeche agentes multirresistentes, se procede a identificar y realizar estudios de sensibilidad de manera de asistir al médico tratante con la terapia antimicrobiana.

Se pueden encontrar falsos positivos por contaminación con flora de la piel.

Se pueden encontrar falsos negativos en caso de bajo número de MO, MO fastidiosos que no crecen en los medios utilizados o uso de antimicrobianos previos.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

8. Muestras del tracto respiratorio superior y anexos

8.1 Exudado nasal

Esta muestra solo se utiliza para buscar portadores de *S. aureus*. Recordamos que alrededor de 30% de la población es portadora de este microorganismo a nivel nasofaríngeo por lo cual su hallazgo no tiene habitualmente significancia clínica salvo en situaciones especiales.

El exudado nasal no es útil para el diagnóstico etiológico en casos de rinitis, rinosinusitis ni en casos de otitis media ni cuadros respiratorios altos.

A. MATERIAL NECESARIO

- Hisopo de algodón.

B. TÉCNICA

Tomar muestra profunda de ambas fosas nasales con el mismo hisopo.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Basta con un hisopo.

D. OBSERVACIONES

Se deberá consignar en el boleto de pedido si hay lesiones o costras a nivel nasal.

PROCESAMIENTO EXUDADO NASAL

Existen numerosos medios de cultivo selectivos para este tipo de muestras. La elección de utilizar un medio selectivo queda a criterio de cada Laboratorio. En nuestro caso sembramos solo en agar sangre ovina al 5%, incubamos durante 24 horas en atmósfera ambiental y buscamos las colonias características de *S. aureus*.

Si se detecta *S. aureus* se procede a realizar el estudio de sensibilidad correspondiente.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

También existen técnicas moleculares para la detección de este agente y que identifican cepas de *S. aureus* meticilino resistentes.

8.2 Exudado faríngeo

Se utiliza para el diagnóstico de faringitis estreptocócica. Excepcionalmente se pueden requerir búsqueda de otros patógenos (por ejemplo: *Neisseria gonorrhoeae*). Para ello consultar previamente con el Laboratorio.

A. MATERIAL NECESARIO

- Bajalengua (imprescindible)
- Hisopo de algodón

B. TÉCNICA

Bajo visión directa, con ayuda del bajalengua, hisopar todas las zonas con exudado, membranas o inflamación. Frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. Evitar que el hisopo toque la mucosa oral, lengua, úvula o dientes.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Basta con un hisopo.

Si se hace técnica rápida de investigación de *S. pyogenes* se deben extraer dos muestras: una para técnica rápida y otra para enviar a laboratorio en caso de que la técnica rápida de negativa. Recordar que la técnica rápida tiene problema de sensibilidad y por tanto se deben confirmar las muestras negativas.

PROCESAMIENTO DE EXUDADO FARÍNGEO

Existen numerosos medios de cultivo selectivos para este tipo de muestras. La elección de utilizar un medio selectivo queda a criterio de cada Laboratorio. En nuestro caso sembramos solo en agar sangre ovina al 5%.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Sembramos el AS descargando el contenido del hisopo en un superficie correspondiendo a un sexto de la placa, haciéndolo girar de manera todas las caras del hisopo tomen contacto con el medio.

Incubamos durante 24 horas en atmósfera ambiental y buscamos las colonias beta hemolíticas. Re incubamos 24 horas adicionales si a las 24 horas no detectamos colonias beta hemolíticas.

Se investiga rutinariamente la presencia de *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A (*S. pyogenes*) y otros grupos beta hemolíticos como C y G.

Se informa como “No se aísla *Streptococcus* beta-hemolítico del grupo A, C y G” cuando el cultivo es negativo.

Se informa el agente aislado cuando el cultivo es positivo.

8.3 Senos paranasales

Es un procedimiento médico. Se realiza la punción-aspiración de los mismos, lo que requiere un especialista en otorrinolaringología (ORL). Este tipo de muestra no se realiza de rutina en caso de sinusitis aguda. Suele reservarse para: casos que no responden al tratamiento, sinusitis crónica, y siempre que el especialista lo considere necesario.

A. MATERIAL NECESARIO

- Jeringa para aspiración.
- Tubo estéril.

B. TÉCNICA

Procedimiento médico.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

- Tubo estéril con muestra de aspiración.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SENOS NASALES



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Idéntico a líquido biológico tipo líquido pleural. Buscar crecimiento de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pyogenes*. Bajo pedido o guiados por resultado de examen directo, realizar búsqueda de anaerobios.

En casos de sospecha de sinusitis de origen nosocomial (asociada a ventilación mecánica invasiva) el espectro de MO puede variar y son más frecuentes *S. aureus* y bacilos Gram negativos.

Interpretación de cultivos

Cuando los cultivos son negativos se reporta sin desarrollo y se especifica el número de días que se incubó. Esto no quiere decir que el paciente no tenga sinusitis. De hecho es frecuente el cultivo negativo.

Cuando los cultivos son positivos, es frecuente el hallazgo de flora polimicrobiana y se informa describiendo someramente las características de la flora encontrada. El hallazgo de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pyogenes* es significativo de infección. El hallazgo de *S. aureus* y bacilos Gram negativos debe interpretarse junto al hallazgo del examen directo y el contexto clínico del paciente.

8.4 Conducto auditivo externo

Solo se utiliza para conocer la etiología en caso de otitis externa. Suele tratarse de muestras de mala calidad y general no son representativas de los microorganismos existentes en el oído medio. Sólo en caso de rotura de tímpano espontánea reciente (pocas horas), podría ser de utilidad para determinar agentes de otitis media.

A MATERIAL NECESARIO

- Hisopos de algodón
- Suero fisiológico estéril

B. TÉCNICA



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Para otitis externa: limpiar posibles restos de pus o secreciones del conducto auditivo externo con hisopo humedecido en suero fisiológico y descartar. Luego tomar muestra del oído indicado, o de ambos por separado, frotando el borde activo de la lesión con nuevo hisopo.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Un hisopo para cada oído.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE CONDUCTO AUDITIVO EXTERNO

Se procesa de idéntica manera que una muestra de exudado de herida abierta (ver más adelante). Los MO más frecuentes son *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Vibrio alginolyticus* y *P. aeruginosa*.

8.5 Oído medio – Timpanocentesis

Procedimiento médico. Se reserva para el diagnóstico etiológico en casos de otitis media que no ha respondido al tratamiento, que se presenta en pacientes inmunodeprimidos, en otitis crónica y en aquellos casos que el médico considere necesario.

A MATERIAL NECESARIO

- Hisopos de algodón
- Jeringa con aguja
- Tubo estéril

B. TÉCNICA

- Limpiar el canal auditivo externo y realizar antisepsia con hisopo impregnado en povidona yodada.
- Puncionar el tímpano con jeringa y aguja a través de otoscopio estéril, aspirando el contenido del oído medio.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Un tubo estéril.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE TIMPANOCENTESIS



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Idéntico a líquido biológico tipo líquido pleural. Buscar crecimiento de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pyogenes*. Otros menos frecuentes son *Bordetella trematum*, *Turicella otitidis* y *Alloiococcus otitis*. Este último requiere medios especiales para su recuperación.

9. Muestras oculares

9.1 Exudado conjuntival

Este tipo de muestras sirve para el diagnóstico de conjuntivitis de causa bacteriana. Estas son a menudo unilaterales. De todas maneras se solicita que se haga la toma de muestra de ambos sacos conjuntivales por separado, de manera de poder valorar la flora transitoria.

A. MATERIAL NECESARIO

- Hisopos de algodón.

B. TECNICA

- Debe obtenerse la muestra antes de la instilación de los analgésicos locales, colirios o antibióticos.
- Con un hisopo humedecido en suero fisiológico frotar sobre la conjuntiva tarsal inferior y el fórnix de afuera hacia adentro.
- Si interesa investigación de *Chlamydia trachomatis*: comunicarse previamente con el laboratorio.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Deberá utilizarse un hisopo para cada ojo.

D. OBSERVACIONES

Los cultivos de conjuntiva **preoperatorios** no son útiles: el número y tipo de microorganismos de la conjuntiva normal varía diariamente, por lo que estas muestras no resultan válidas al momento de la cirugía.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE EXUDADO CONJUNTIVAL

Cada hisopo se siembra en agar sangre y agar chocolate que se incuban a 35°C en atmósfera enriquecida en CO₂.

A las 24 horas se buscan colonias características de *H. influenzae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Moraxella* spp., *S. pyogenes* y *N. gonorrhoeae*. Pueden encontrarse *P. aeruginosa* y otros bacilos Gram negativos en conjuntivitis de origen nosocomial y/o inmunosuprimidos. Otros agentes de la microbiota.

Si no hay crecimiento a las 24 horas, se incuban 24-48 horas adicionales.

Los agentes de la microbiota habitual como *Staphylococcus* coagulasa negativos, difteroides, *Streptococcus* grupo viridans, etc. habitualmente no se estudian y se consulta con el oftalmólogo frente a cultivos puros y abundantes.

9.2 Raspados corneales

Procedimiento médico, la toma de muestra la realiza un Oftalmólogo o Médico de Laboratorio entrenado a tal fin. Se debe comunicar previamente con el Laboratorio de Microbiología para coordinar.

A. MATERIAL NECESARIO

- Hisopos de algodón
- Ansa bacteriológica descartable o aguja o espátula de Kimura.
- Anestésico local.
- Portaobjetos limpios.
- Caja de Koplin con metanol al 95%.

B. TÉCNICA

Condiciones pre-toma:



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Previamente al raspado corneal se debe tomar muestras de exudado conjuntival de ambos ojos por separado, dado que facilita la interpretación de los resultados.
- Luego instilar 1 o 2 gotas de un anestésico local que no inhiba el crecimiento bacteriano, (se debe utilizar preferentemente clorhidrato de procaína).
- Realizar el raspado de múltiples (3 a 5) áreas de ulceración con bisel de aguja o ansa descartable. Es recomendable realizar este proceso bajo lámpara de hendidura.
- El material obtenido se siembra, inmediatamente, en los medios provistos por el Laboratorio.
- Parte del material se colocará en portaobjetos limpio.
- Fijar el o los portaobjetos en metanol durante 5-10 minutos.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Mínimo 1 portaobjetos y medios de cultivos con varias improntas corneales.

D. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

Una vez fijados los portaobjetos no requieren medidas especiales para su transporte y conservación.

Los medios se transportarán en forma inmediata al Laboratorio de Microbiología.

PROCESAMIENTO DE RASPADOS CORNEALES

Se siembra al lado del paciente en agar sangre, agar chocolate. Cada raspado de la córnea se siembra en forma de C en los medios sólidos. Se incuban a 35°C en atmósfera enriquecida en CO₂. Si no hay crecimiento a las 24 horas, se incuban 24-48 horas adicionales.

En el examen directo buscar reacción inflamatoria.

La queratitis puede estar causada por variados agentes, que dependen del mecanismo por el cual se dañó la córnea. Por ejemplo, si está asociada a uso de lentes de contacto pueden estar involucrados *P. aeruginosa*, otros bacilos Gram negativos y *Acanthamoeba* sp. Si hay trauma con elementos de la naturaleza, por ejemplo ramas de árbol, pueden encontrarse *Bacillus* sp.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

10. Muestras del tracto respiratorio inferior

10.1 Expectoración

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 flora saprófita de la orofaringe.

A.MATERIAL NECESARIO

- Frasco estéril de boca ancha, hermético.
- Suero fisiológico estéril y nebulizador ocasionalmente.

B.TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- Enjuagar la boca con agua.
- Obtener el esputo tras una expectoración profunda luego de un esfuerzo de tos, preferentemente al levantarse por la mañana y en ayunas.
- La muestra debe provenir del sector bajo del tracto respiratorio. La saliva no sirve para realizar este estudio.

C.VOLUMEN MÍNIMO: de 2 a 10 ml, si es posible.

D.OBSERVACIONES

- Es preferible realizar la toma de muestra antes de instaurar el tratamiento antibiótico.
- No es útil para anaerobios.
- La expectoración no se procesa para cultivo al menos tenga 25 leucocitos polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo (100x).



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Si no se obtiene muestra representativa del tracto respiratorio inferior, es inútil insistir con esta técnica diagnóstica.

PROCESAMIENTO

DE

EXPECTORACIÓN

Materiales y medios de cultivo
necesarios



Láminas y reactivos para coloración de Gram.

Agar sangre ovina 5% (AS)

Agar chocolate (ACH).

Agar Mac Conkey lactosa (McL).

Procedimiento de siembra:

- Idealmente el procesamiento de las muestras debe realizarse en un gabinete de bioseguridad de clase 2.
- Procesar la muestra lo antes posible, dado el efecto adverso que tienen los retrasos en la recuperación de ciertos patógenos, como ya se mencionó.
- 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); ver explicación más adelante
- Inocular los medios de cultivo (AS, AChoc, McL) con ansa estéril, estriando en 4 cuadrantes
- Incubar las placas a 35-37°C, (AS y AChoc en atmósfera enriquecida con 5% CO₂) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los cultivos. La placa de McL va a idéntica temperatura pero con atmósfera ambiental.

Examen directo

Se utiliza para valorar de la calidad de las muestras de expectoración.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

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.

Técnica de observación de tinción de Gram

- Examinar a bajo aumento (10x) 20-40 campos del frotis de la expectoración teñido con Gram y valorar la relación entre células epiteliales planas (CEP) y leucocitos polimorfonucleares (LPMN).
- Existen varios criterios (Cuadro 6) 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 **< de 10 CEP (1) y > de 25 leucocitos LPMN** 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.

Autores	Método	Criterios de aceptabilidad
Bartlett	Asignar +2 si se observan >25 LPMN, +1 si se observan 10-25 LPMN, -2 si se observan >25 CEP, y -1 si se observan 10-25 CEP.	Sumar los puntos obtenidos y procesar toda muestra que logre un score positivo.
Murray y Washington	Establecer el número promedio de LPMN y CEP	<10 CEP/LPMN
Geckler y cols.	Establecer el número promedio de LPMN y CEP	< 25 CEP/LPMN



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Van Scoy	Establecer el número promedio de LPMN y CEP	>25 LPMN/CEP.
----------	---	---------------

Cuadro 6: Criterios de interpretación de examen directo de expectoración.

Lectura e interpretación de cultivos

- Realizar una primer lectura a las 24 horas de incubación (las placas se incuban 24 a 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).

El resultado del examen directo con Gram debe utilizarse como guía para la interpretación del cultivo. 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: 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 LPMN.

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, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y antibiograma.
<i>Staphylococcus</i>	\leq microbiota normal	$<10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota



redEMC
Infectología



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



<i>aureus</i>			habitual
	Recuento moderado-alto, > 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, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.
<i>Haemophilus influenzae</i>	\leq microbiota normal	$< 10^3$ UFC/ml	No estudiar, considerarse como parte de la microbiota habitual
	Recuento moderado-alto, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.
<i>Streptococcus</i> 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, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.
Enterobacterias (1 o 2 morfologías diferentes)	\leq microbiota normal	$< 10^3$ UFC/ml	No estudiar.
	Recuento moderado-alto, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.
Bacilos gram negativos no fermentadores, como <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i>	\leq microbiota normal	$< 10^3$ UFC/ml	No estudiar.
	Recuento moderado-alto, > que microbiota normal	$\geq 10^{3-4}$ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

spp., <i>Stenotrophomona</i> <i>s maltophilia</i> , etc.			
> 2 morfotipos de bacilos Gram negativos mezclados	≤ microbiota normal	<10 ³ UFC/ml	No estudiar, informar como flora Gram negativa mixta.
	Recuento moderado- alto, > 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</i> spp., <i>Streptomyces</i>	Cualquier desarrollo	Cualquier recuento	Identificar e informar.
<i>Corynebacterium</i> spp.	≤ microbiota normal	<10 ³ UFC/ml	No estudiar.
	Recuento moderado- alto, > que microbiota normal	≥10 ³⁻⁴ UFC/ml	Identificación y estudio de sensibilidad.

Tomado y adaptado de Lower Respiratory Tract Cultures en Clinical Microbiology Procedures Handbook(16)

Cuadro 7: Guía para interpretación de hallazgos en cultivos del tracto respiratorio inferior.

Informe

Cuando se rechaza la muestra para cultivo por no cumplir con los criterios de aceptabilidad, de acuerdo al examen directo, debe reportarse: “Muestra no representativa del tracto respiratorio inferior; la microscopía revela presencia de > 10 células epiteliales planas por campo de bajo aumento, no apta para cultivo. Enviar nueva muestra si está clínicamente indicado”.

Cultivos:

- Cultivos negativos: (puede deberse a inhibición de la flora por tratamiento antibiótico previo).
 - Informar: “Sin desarrollo en ---horas de incubación”.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Cultivos positivos:
 - Ausencia de patógenos en desarrollo significativo: “Desarrollo compatible con flora del tracto respiratorio superior” o “No desarrolla bacterias patógenas”.
 - Se encontró desarrollo significativo de algún patógeno potencial: informar desarrollo con identificación y resultado de estudio de susceptibilidad antibiótica.

Limitaciones:

Recordar que son múltiples los agentes de neumonía que no crecen en los medios de cultivo rutinariamente utilizados en el laboratorio de microbiología; requiriéndose de otro tipos de procedimientos especiales para su diagnóstico (por ejemplo: virus, micobacterias, *Legionella* spp., *Chlamydomphila pneumoniae*, etc.)(1).

- Falsos negativos: pueden relacionarse con administración previa de antibióticos, muestras mal recolectadas, retrasos en el envío y/o procesamiento de las muestras.
- Falsos positivos: dado que varios agentes de neumonía (como *H. influenzae*, *S. pneumoniae*) pueden también encontrarse formando parte de la microbiota normal del tracto respiratorio superior es importante una correcta valoración del examen directo y el cultivo para diferenciar entre ambas situaciones. La contaminación de las muestras con la microbiota respiratoria normal con su consiguiente desarrollo en cultivo y la sobreinterpretación por parte del laboratorio pueden llevar a resultados falsamente positivos.

10.2 Secreciones traqueales

Esta muestra se utiliza fundamentalmente para valorar la colonización e infección del tracto respiratorio en el paciente ventilado. Tiene valor análogo al esputo por su contaminación con la flora orofaríngea. No obstante un resultado de cultivo semicuantitativo de 3 o 4 cruces (desarrollo en tres o cuatro cuadrantes de la placa de Petri) se correlaciona bien con la etiología de la neumonía en el paciente ventilado.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Esta muestra se obtiene con sonda de aspiración por personal de enfermería debidamente entrenado.

Se enviará al laboratorio en frasco trampa o tubo estéril.

Tiene las mismas consideraciones que la expectoración.

Criterios de rechazo:

- Las muestras de aspirado traqueal remitidas en tubuladura no serán procesadas.
- Rechazar muestras para cultivo que hayan sido obtenidas en intervalos menores de 48 horas (si entre la primer y segunda muestra pasaron menos de 48 horas se consideran muestras duplicadas y se debe rechazar la segunda a menos que la primer muestra hubiera resultado inadecuada para su procesamiento).

Procesamiento de la muestra

Materiales:

- Láminas y reactivos para coloración de Gram.
- Agar sangre (AS).
- Agar chocolate (AChoc).
- Agar Mac Conkey lactose (McL).

Procedimiento:

- Debe realizarse, en lo posible, en gabinete de bioseguridad; lo antes posible, seleccionando las áreas más purulentas.
- El proceso es análogo al de la expectoración (confección de 2 frotis para tinción con Gram, siembra en AS, AChoc y McL).
- También se realiza el examen directo con tinción de Gram para determinar la calidad de la muestra, si bien los criterios de aceptabilidad no están tan universalmente aceptados como para la expectoración, se establece como criterio de rechazo en aspirados traqueales de pacientes adultos la presencia de >10 CEP/LPMN.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Incubación: a 35-37°C, (AS y Achoc en atmósfera enriquecida con 5% CO₂) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los cultivos. La placa de MCL va a idéntica temperatura pero con atmósfera ambiental.

Lectura e interpretación de los cultivos:

- El desarrollo observado se expresa en forma semicuantitativa.
- Se considera como significativo un resultado de cultivo semicuantitativo de tres o cuatro cruces (desarrollo en tres o cuatro cuadrantes de la placa de Petri), de un microorganismo puro o predominante, dado que se correlacionan bien con la etiología de la neumonía en el paciente ventilado.
- Puede utilizarse el Cuadro 7 como guía para la valoración de los cultivos.

Informe

Microscopía: informar el resultado del examen microscópico con tinción de Gram.

Cultivos:

- Cultivos negativos: (puede deberse a inhibición de la flora por tratamiento antibiótico previo).
 - Informar: "Sin desarrollo en ---horas de incubación"
- Cultivos positivos:
 - Ausencia de patógenos en desarrollo significativo: "Desarrollo compatible con flora del tracto respiratorio superior" o "No desarrolla bacterias patógenas".
 - Se encontró desarrollo significativo (3 o 4 cuadrantes) de algún patógeno potencial: informar identificación y resultado de susceptibilidad antibiótica.

Limitaciones:

- -Falsos negativos: pueden relacionarse con administración previa de antibióticos, muestras mal recolectadas, retrasos en el envío y/o procesamiento de las muestras.
- -Falsos positivos: contaminación de las muestras con la microbiota respiratoria (recordar la alta colonización traqueal en pacientes internados, especialmente en aquellos ventilados) que



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

desarrolla posteriormente en cultivo, junto con la sobreinterpretación por parte del laboratorio pueden llevar a resultados falsamente positivos.

11. Muestras obtenidas a través de fibrobroncoscopio

Estas muestras son obtenidas por un procedimiento médico.

En términos generales las muestras obtenidas por fibrobroncoscopía salvo el cepillado bronquial por catéter protegido, son muestras contaminadas en mayor o menor grado con flora orofaríngea.

A-MATERIAL NECESARIO

- Material específico para broncoscopía.
- Recipiente o frasco trampa estéril hermético.

B. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN. Enviar inmediatamente al laboratorio.

C. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO

Técnica a realizar por personal entrenado.

Pueden emplearse las siguientes:

11.1 Broncoaspirado (BAS)

Recogida de secreciones respiratorias a través de fibrobroncoscopio. Con menor grado de contaminación que el esputo. Se procesa e interpreta de la misma manera que el aspirado traqueal simple.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

11.2 Lavado broncoalveolar (LBA) y lavado broncoalveolar a ciegas

Muestra recogida a partir de los bronquiolos distales y alvéolos. En el primer caso, el broncoscopio es anclado en el lumen de la vía aérea distal en uno o más segmentos pulmonares, dependiendo de la extensión de la infección y desde allí se introduce suero fisiológico estéril para luego aspirarlo.

En el segundo caso (LBA a ciegas) se utiliza los mismos principios que los lavados a través de fibrobroncoscopio pero se realiza sin este. Se utiliza una sonda de aspiración que se introduce por vía aérea a ciegas.

Para este tipo de muestra se realizan cultivos cuantitativos, lo que aumenta la especificidad del diagnóstico (1).

A. MATERIAL NECESARIO

- Material específico para broncoscopia.
- Recipiente o frasco trampa estéril hermético.

B. TÉCNICA O METODOLOGÍA DE OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Técnica realizada por especialista con experiencia.

- Es una maniobra que realiza médico fibro-broncoscopista o intensivista entrenado.
- Si el paciente está intubado, antes de realizar LBA es conveniente aspirar las secreciones traqueales del paciente.
- Durante la maniobra evitar succionar por el canal de trabajo antes de realizar la toma de muestra para evitar contaminación de especímenes.
- La técnica no está definitivamente estandarizada lo cual dificulta la comparación de resultados entre los distintos autores. Consiste en la instilación a través del bronco-fibroscopio o sonda de aspiración, de un volumen determinado de suero fisiológico a nivel de un segmento o sub-segmento pulmonar.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- En adultos, el líquido para el lavado se instila en alícuotas de 20 a 50 ml con una jeringa. Se instila un total de 120-200 ml. Para pacientes pediátricos se instila un volumen inicial de 1 ml/kg de peso, pudiéndose realizar dos instilaciones adicionales con idéntico volumen. Cada instilación se sigue inmediatamente de una aspiración manual mediante la propia jeringa o bien con aspiración mecánica suave (con una presión de 5 cm. de agua), modificable en cada enfermo para conseguir la máxima cantidad de fluido instilado sin que colapse excesivamente la vía aérea y provoque su fusión hemorrágica submucosa.
- El líquido recuperado debe ser alrededor de un 40-50% del volumen instilado. Suele ser traslúcido u opalescente dependiendo de la cantidad de material celular y no celular en suspensión. En los casos de hemorragia alveolar difusa, es típico el aspecto sonrosado o marrón, más intenso en las últimas alícuotas recuperadas.
- Es importante desechar la primera porción del líquido aspirado (contaminada con secreciones del tracto respiratorio superior) y no se debe enviar para estudio microbiológico.
- Si se recibe muestra purulenta (rotulada como LBA), se deberá consultar como se realizó toma de muestra. En caso de tratarse de muestra de secreciones obtenidas por fibrobronco-aspiración, se procede igual que para la muestra de aspirado traqueal.

C. VOLUMEN MÍNIMO: 30% del volumen instilado. Descartar la primera porción aspirada.

PROCESAMIENTO DE LBA

Materiales y medios de cultivo

- Ansa calibrada de platino o descartable, *tips* estériles y micropipeta.
- Placas de AS, Achoc y McL: una de cada una para cada dilución.
- Vórtex.
- Gabinete de seguridad biológica (clase 2).

Procedimiento de siembra



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Para el LBA debe realizarse el **cultivo cuantitativo**; para lo que existen dos métodos para la inoculación de los medios:

Método de la dilución seriada:

- 1) Vórtex de la muestra durante 30 a 60 segundos.
- 2) Rotular las placas con las diluciones a sembrar.
- 3) Transferir 10 µl de LBA a las placas rotuladas "X100". Cada colonia de esta placa equivale a 100 ufc.
- 4) Colocar 5 cc de suero fisiológico estéril en un tubo estéril. Transferir a este tubo 50 µl de LBA. Vórtex. Transferir 100 µl de esta dilución a las placas rotulada "X10³". Cada colonia de esta placa equivale a 10³ ufc.
- 5) Colocar 5 cc de suero fisiológico estéril en un tubo estéril y transferir a este tubo 50 µl de la dilución realizada en el punto 4). Vórtex. Transferir 100 µl de esta dilución a las placas rotulada "X10⁵". Cada colonia de esta placa equivale a 10⁵ ufc.
- 6) Esparcir los inóculos sembrados con ansa.

Método del ansa calibrada:

- Las placas a utilizar se etiquetan con el número identificador de la muestra y además se rotula el volumen de muestra con el que serán inoculadas:
AS: una placa se rotula "10 ul" y la otra "100 ul".
Achoc: una placa se rotula "10 ul" y la otra "100 ul".
MCL: una placa se rotula "10 ul" y la otra "100 ul".
- Con ansa calibrada (de 10 ul) colocar 10 ul de muestra en cada una de las placas rotuladas como "10 ul". En cada placa rotulada como "10 ul" → cada colonia observada = 100 UFC/ml (es decir que multiplico x 100 el número total de colonias que observo para determinar el número de UFC por ml de muestra).
- Con pipeta automática transferir 100 ul de muestra a cada una de las placas rotuladas como "100 ul". En cada placa rotulada como "100 ul" cada colonia = 10 UFC/ml (es decir



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

que multiplico x 10 el número total de colonias que observo para determinar el número de UFC por ml de muestra).

Incubación de los cultivos: a 35-37°C, (AS y Achoc en atmósfera enriquecida con 5% CO₂) por 48 a 72 horas, con lectura diaria de los mismos.

Confección de frotis:

- Idealmente (una vez que la muestra fue sembrada) realizar citocentrifugación para la preparación de los frotis a partir del sedimento. Se confeccionan 3 láminas; una para tinción con Gram y las otras se reservan en caso que se requiera repetir o realizar otra coloración.
- La presencia de más de 1% de células epiteliales planas indica contaminación orofaríngea.
- La observación de microorganismos en la tinción de Gram es, en general, indicativo de presencia de neumonía.

No existe unanimidad de criterios para la interpretación de la tinción de Gram en este tipo de muestras ya que es muy dependiente del volumen instilado, forma de realizar la toma de muestra, tipo de centrifugación, etc.

Interpretación de los cultivos:

- 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.
- Interpretación del recuento obtenido: identificar los microorganismos presentes en **recuento significativo ($\geq 10^4$ UFC/ml)**; consultar el Cuadro 7 como guía para la toma de decisiones.
- 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 (1).
- El resultado del examen directo con tinción de Gram debe considerarse en conjunto con el resultado del cultivo para guiar la toma de decisiones; un patógeno primario que crece puro pero sin alcanzar el recuento establecido como significativo debería identificarse si es



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

consistente con el morfotipo observado en el examen directo (especialmente si se observó asociado a LPMN).

Informe

Microscopía: informar el resultado del examen directo con tinción de Gram.

Cultivos:

- Cultivos negativos: (puede deberse a inhibición de la flora por tratamiento antibiótico previo)
 - Informar: “Sin desarrollo en... horas de incubación.”
- Cultivos positivos:
 - Informar el recuento obtenido en el cultivo.
 - Si se encontró desarrollo significativo de algún patógeno potencial informar la identificación y resultado de estudio de susceptibilidad antibiótica.
 - Si se obtuvo desarrollo polimicrobiano sin patógeno claramente predominante informar: “Desarrolla... UFC/ml de flora polimicrobiana, desarrollo compatible con flora del tracto respiratorio superior”.

Limitaciones:

Recordar que son múltiples los agentes de neumonía que no crecen en los medios de cultivo rutinariamente utilizados en el laboratorio.

- Falsos negativos: pueden relacionarse con administración previa de antibióticos, muestras mal recolectadas, retrasos en el envío y/o procesamiento de las muestras.
- Falsos positivos: contaminación de las muestras con la microbiota respiratoria (recordar la alta colonización traqueal en pacientes internados, especialmente en aquellos ventilados) que desarrolla posteriormente en cultivo, junto con la sobreinterpretación por parte del laboratorio pueden llevar a resultados falsamente positivos. Recordar que las especies de *Candida* no son causa de neumonía excepto posiblemente en pacientes oncológicos, trasplantados de pulmón y neonatos. La colonización por *Cándida* del árbol bronquial en



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

enfermos críticos con respiración mecánica es común. Múltiples estudios prospectivos y retrospectivos, incluidos estudios de autopsias, demuestran sistemáticamente el poco valor predictivo del crecimiento de *Candida* a partir de secreciones respiratorias, incluyendo el líquido de lavado bronco-alveolar, aún en los pacientes antes mencionados. Por tanto, si crece *Candida*, se advierte su presencia pero se reporta como contaminante del tracto respiratorio superior.

12. Piel y tejidos blandos

Los agentes primarios de infecciones de piel y partes blandas son variados destacándose *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* beta-hemolíticos y *Clostridium perfringens*. El espécimen de elección en el caso de infecciones de piel y partes blandas depende del carácter de la lesión y no de los microorganismos que se sospechen. Tejidos y aspirados son, en general, muestras más representativas y de elección para investigación de anaerobios. Debe destacarse que las muestras de heridas colectadas con hisopos siempre serán menos apropiadas que un trozo de tejido o un aspirado.

Se consideran flora habitual los siguientes microorganismos (MO): *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN), *Micrococcus* spp., y *Propionibacterium* spp. El aislamiento de estos MO puede ser significativo si se acompaña de examen directo compatible o se trata de un proceso asociado a un elemento protésico.

Es fundamental contar con datos clínicos y epidemiológicos de manera de evaluar los hallazgos microbiológicos. Es importante conocer: localización anatómica del proceso, tipo de infección sospechada (celulitis, impétigo, infección de sitio quirúrgico, pie diabético, etc.), si la infección es aguda o evolucionada y en algunos casos, agente que se sospecha o se quiere buscar. Es importante conocer antecedentes epidemiológicos: baño en agua dulce (*Aeromonas* spp.) o agua salada (*Vibrios vulnificus*), mordedura (animal involucrado), si es pescador (*Erysipelothrix*) o cazador de mulitas o un paciente procedente medio rural (*Bacillus anthracis*).



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

12.1 Heridas superficiales, abscesos abiertos y heridas quirúrgicas

A. MATERIAL NECESARIO

- Suero fisiológico.
- Jeringa y aguja estériles.
- Recipientes estériles con tapa de rosca.
- Hisopos estériles.

B. TÉCNICA

- Lavar con suero fisiológico estéril a chorro cuidadosamente la superficie de la herida para retirar la flora colonizante. Se recomienda eliminar el pus, el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar “a chorro” con suero salino estéril.
- Recoger el pus mediante jeringa y aguja, aspirando preferentemente de zonas profundas y contra las paredes de la herida.
- En caso de celulitis, cuando la muestra por aspiración no traiga material se puede instilar suero fisiológico y aspirarlo nuevamente en la jeringa.
- Colocar la muestra extraída en tubo estéril con tapa de rosca o presión.
- Cuando los procedimientos anteriores no sean factibles podrá efectuarse tomarse la muestra de los bordes de la herida con, de preferencia, dos hisopos: uno para examen directo y otro para cultivo.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Para muestras líquidas se intentara obtener 1-10 ml. En el resto de las ocasiones se enviará la máxima cantidad posible.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

D. OBSERVACIONES

Las muestras recibidas en hisopo son de escasa rentabilidad y deben obtenerse sólo cuando no se pueda recoger la muestra por otros métodos.

Distintos tipos de hisopos pueden tener características diferenciales que cambien la tasa de recuperación (ver Cita 14).

12.2 Abscesos cerrados

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO

- Gasas estériles.
- Alcohol etílico al 70%.
- Alcohol con clorhexidina.
- Jeringa estéril con aguja.
- Tubo estéril.

B. TÉCNICA

- Realizar antisepsia de la zona a puncionar con alcohol al 70%, de forma concéntrica comenzando por el centro. Abarcar una zona suficientemente extensa.
- Repetir la operación con alcohol clorhexidina.
- Esperar que se seque el antiséptico.
- Realizar una punción-aspiración del absceso con jeringa y aguja. La muestra más útil es la obtenida contra la pared del absceso y puncionando en el lado superior (zona con mayor granulación) para evitar la fistulización espontánea.
- Traspasar la muestra a un tubo estéril.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Deberá enviarse, en lo posible, un volumen de muestra de 1 ml.

D. OBSERVACIONES

En caso de heridas por mordeduras aspirar pus de la herida. No cultivar heridas por mordeduras reciente ya que generalmente no existe evidencia aun evidencia de infección

12.3 Muestras de tejido y biopsias

Es un procedimiento médico

A. MATERIAL NECESARIO

- Alcohol con clorhexidina
- Instrumental quirúrgico
- Tubos estériles

B. TÉCNICA

Estas muestras son colectadas por el cirujano o especialista quirúrgico con técnica aséptica. La piel debe prepararse con alcohol clorhexidina previo al procedimiento. Una vez se realizó la incisión el cirujano debe cambiar a nuevo bisturí estéril para colectar la muestra. Las muestras de tejidos de lugares que están drenando (por ejemplo: úlceras por presión) deben obtenerse después de realizar adecuada antisepsia y debridamiento. Se obtienen por curetaje profundo. Las muestras óseas se obtienen directamente del hueso, luego de debridar tejidos. El tejido óseo infectado es más blando y se puede colectar más fácilmente.

C. NÚMERO DE MUESTRAS Y/O VOLUMEN

Recolectar cantidad de tejido suficiente evitando las áreas necróticas, de preferencia mayores a 3 x 4 mm.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

12.4 Procesamiento de muestras de piel y partes blandas

Materiales y medios de cultivo necesarios

Pipeta Pasteur estéril

Placas AS y McL

Portaobjetos o láminas

Aspirados y abscesos cerrados

- Mezclar bien la muestra. Depositar una gota del material en cada placa de cultivo.
- Si se solicita cultivo anaerobio, inocular primero una placa de agar sangre para colocar en atmósfera anaerobia.
- -Preparar dos láminas para examen directo depositando una gota de la muestra y extendiéndola para lograr un preparado fino.
- Si el aspirado es claro se puede usar citocentrífuga para concentrar el material para preparar el directo.
- Si hay muestra suficiente inocular los aspirados colectados en forma invasiva en un caldo de cultivo llegando a una dilución 1:10. si el volumen es pequeño omitir este paso.

Hisopos

- Uno de los hisopos se utiliza para sembrar las placas en forma directa. Siempre inocular los medios desde el menos inhibitorio al más inhibitorio.
- El otro hisopo se utiliza para realizar el examen directo.
- Alternativamente, poner el hisopo en 1 ml de caldo de cultivo y mezclar con vórtex.
- Escurrir el hisopo contra un lado del tubo y descartar.
- Sembrar placas y preparar lámina para estudio directo de la misma manera que aspirados.

Tejidos

Para sembrar los tejidos es conveniente someterlos previamente a algún sistema de homogenización, para lo cual hay diferentes procedimientos que no abordaremos.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Luego de esto se realiza la siembra en agar sangre en atmósfera anaerobia, agar chocolate y agar sangre en atmósfera enriquecida en CO₂ y MCL en atmósfera ambiental. Por último se confeccionan las láminas.

Interpretación de examen directo y cultivos

- En examen directo con tinción de Gram, registrar el número relativo de leucocitos, células epiteliales y morfotipos bacterianos y fúngicos.
- Si se reconocen microorganismos clínicamente importantes avisar en forma telefónica a quien corresponda. Algunos ejemplos son:
 - Bacilos Gram positivos tipo *Clostridium* en muestras de infecciones de partes blandas o aspirados incluso en ausencia de PMN.
 - Cocos Gram positivos en cadena en muestras de celulitis y/o fascitis.

Cultivos

- Examinar las placas a las 24 horas para buscar presencia de agentes primarios de piel y partes blandas. Correlacionar con hallazgos de examen directo.
- Si no hay crecimiento, continuar reincubando 24 horas adicionales. En caso de sospecha de *Nocardia*, incubar hasta 5 días.
- Se pueden llegar a identificar hasta 3 microorganismos de los posibles patógenos si cualquiera de las siguientes condiciones se cumple:
 - Presencia de PMN en el examen directo.
 - La muestra procede de un sitio normalmente estéril.
 - La muestra es de buena calidad (ninguna o pocas células epiteliales presentes).
 - Los microorganismos se vieron en el directo.
- Realizar solo un estudio mínimo para identificar el tipo de flora presente en un cultivo de material recolectado en forma no invasiva si cumple alguno de los siguientes:
 - Células epiteliales en cantidad moderada a abundantes en el directo;



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- No evidencia de infección en el directo (no PMN) y ningún dato clínico que indique infección en el boleta de pedido,
- \geq de 3 microorganismos en el cultivo. Ver excepciones para organismos específicos que siempre se informan.

Identificar *S. pyogenes* o *S. agalactiae*. IMPORTANTE: avisar al clínico en caso de *S. pyogenes* ya que puede tratarse de una fascitis necrotizante.

S. aureus: Realizar antibiograma si el estudio directo indica una muestra de buena calidad y un proceso infeccioso que involucra al microorganismo. Si no es evidente la presencia de un proceso infeccioso, pero es parte de la política de la institución, descartar SAMR en muestras de pacientes internados.

Cuando se recuperan cepas de *Staphylococcus coagulasa-negativos*, realizar antibiograma sólo si son los únicos microorganismos aislados de materiales recolectados en forma invasiva y si además se observan PMN en el directo o si se aíslan en otros cultivos del mismo paciente y misma localización. Informar como flora de piel si se encuentran en cultivos mixtos en cualquier cantidad en heridas superficiales o si hay abundantes células epiteliales en el directo.

Streptococcus del grupo *viridans* o *Enterococcus*

- Identificar en muestras quirúrgicas recolectadas en forma invasiva donde el microorganismo se presenta como patógeno único o predominante y el Gram indica infección (PMN).
- Considerarlo parte de la flora si se encuentran en cultivos mixtos y no predominan.

Si crecen *Bacilos Gram positivos* y la muestra es de un sitio normalmente estéril o una biopsia, descartar *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Arcanobacterium*; *Corynebacterium ulcerans*, *Nocardia* y *Actinomyces*. Identificar otros bacilos Gram positivos si son numerosos o se ven en forma predominante en el directo. De otro modo, incluirlos como flora cutánea.

- Incluir las levaduras como parte de la flora normal, a menos que predominen o sean numerosas. Excepto que se trate de una muestra de un sitio estéril, generalmente sólo identificar *Candida albicans* hasta el nivel de especie.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- En caso de cantidades numerosas a moderadas o predominantes de Bacilos Gram negativos
 - Si sólo una o dos especies están presentes o predominan y hay indicios de infección en el directo, identificar y realizar antibiograma.
 - Si los bacilos entéricos son pocos o no predominan o si >2 especies están presentes y ninguna predomina informar como flora entérica o Gram negativa mixta.
 - Descartar patógenos fecales (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* y *Yersinia* spp.) en muestras provenientes de abscesos abdominales.
 - Identificar y realizar antibiograma en cultivos polimicrobianos de bacilos Gram negativos sólo si existe un pedido expreso. Cuando un cultivo contiene una variedad de bacilos entéricos el tratamiento debe incluir una combinación de agentes antimicrobianos que puedan erradicar la flora intestinal normal. Examinar un cultivo con contaminación fecal para detectar y separar cada especie es inútil y no aporta nada a las decisiones terapéuticas.

INFORME

- Informar el estudio directo con tinción de Gram tan pronto como sea posible.
- Informar todos los cultivos negativos como “Sin desarrollo en X cantidad de días”.
- Informar individualmente aquellos microorganismos que siempre se consideran patógenos enumerándolos e identificándose, si es posible, hasta el nivel de especie.
- Debido a sus conocidos factores de virulencia, indicar la presencia de las siguientes especies:
 - *Streptococcus* beta-hemolíticos;
 - *S. aureus*;
 - *P. aeruginosa*;
 - *Clostridium perfringens*,
 - Informar como “anaerobios pigmentados” *Bacteroides* spp. y “flora anaerobia” sin identificación adicional.
- Informar otros patógenos dependiendo de su cantidad, número de especies presentes y resultado del estudio directo con tinción de Gram.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

- Informar antibiograma en bacilos Gram negativos, *Enterococcus* spp. o *S. aureus*. Generalmente no se realiza antibiograma a microorganismos que no predominan, están en cultivos mixtos, son parte de la flora cutánea o no existen evidencias de infección. Realizar excepciones solo bajo pedido expreso del clínico tratante o por política de control de infecciones.
- Si se cultiva una flora mixta sin predominio informar como “Flora Gram positiva y Gram negativa sin predominio”.

13. Muestras del tracto gastrointestinal

13.1 Coprocultivo

Las infecciones agudas gastrointestinales figuran entre las enfermedades frecuentes. Muestras de heces son enviadas al laboratorio de bacteriología para el estudio etiológico de una diarrea infecciosa o intoxicación alimentaria. Muchas de las diarreas no son causadas por bacterias sino por virus, parásitos u otras enfermedades. Las indicaciones de coprocultivo.

Ha sido bien establecido que pacientes hospitalizados que no ingresan por diarrea difícilmente desarrollen una enterocolitis bacteriana durante la internación, a excepción de *Clostridium difficile*. Por tanto, en las muestras de heces de pacientes internados por más de 3 días se realizará la búsqueda de *C. difficile* pero no serán procesadas para coprocultivo salvo previa coordinación con el laboratorio de bacteriología.

Por otro lado, la infección por *C. difficile* se ha expandido en la comunidad y por tanto las muestras de pacientes ambulatorios que soliciten la detección de *C. difficile* serán procesadas.

Los laboratorios de microbiología investigan rutinariamente, por cultivo, *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. En nuestro laboratorio se investiga también *Campylobacter* sp. Si se desea investigar otros agentes la



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

muestra se enviará a Centro de Referencia o se utilizarán paneles moleculares de detección de múltiples agentes.

Es importante destacar que el procesamiento del coprocultivo es complejo y lleva varios días de estudio.

Criterios de rechazo de la muestra: materias sólidas, materias mezcladas con orina, recipiente desbordado, o muestras derramadas.

A. MATERIAL NECESARIO

- Recipiente estéril de boca ancha y cierre hermético para enviar la muestra (ejemplo: frasco de urocultivos).
- Hisopo con medio de transporte Cary-Blair.

B. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- La muestra debe tomarse de preferencia en los primeros 5 días de la enfermedad ya que pasado este tiempo la excreción del agente disminuye.
- Para coprocultivo: solo se procesan materias líquidas o a lo sumo pastosas.
- Luego de emitidas se toma una porción 5 ml o 1 gr de la muestra y se transfiere desde el recipiente donde hayan sido emitidas, al sistema elegido para el envío al laboratorio (frasco o de preferencia agregar tubo con medio de transporte Cary Blair). Se seleccionan para transferir, de preferencia, las partes con mucus, pus o sangre.
- En caso de heces líquidas puede utilizarse jeringa para aspirado del material fecal del recipiente en donde ha sido emitido.

C. VOLUMEN MÍNIMO

Heces pastosas: muestras del tamaño de una nuez son muy adecuadas pues permiten realizar la mayoría de los estudios.

Heces líquidas 5 ml.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

D. OBSERVACIONES: Las muestras para coprocultivo, deberán tomarse antes de la administración de antimicrobianos y preferiblemente antes de tomar antidiarreicos.

PROCESAMIENTO DE COPROCULTIVO

- Anotar el aspecto macroscópico de las heces: presencia de sangre, mucus o pus, materia formada, semisólida o líquida.
- Realizar un frotis de la sección más representativa del proceso infeccioso y teñir con azul de metileno para examinar presencia de leucocitos fecales. En su defecto, buscar leucocitos por examen en fresco con una gota de azul de metileno. También se puede investigar la presencia de lactoferrina fecal (proteína liberada por leucocitos)

Organismos y toxinas	Observaciones	PMN	Glóbulos Rojos
<i>Salmonella</i> spp.	Diarrea aguda con o sin sangre	Pocos	Sí
<i>Shigella</i> spp.	Diarrea con sangre	Sí	No
<i>Escherichia coli</i> O157 enterohemorrágico	Diarrea con sangre	No	Sí
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva	Sangre y/o mucus	Sí	Sí
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica	Acuosa	No	No
<i>Campylobacter</i> spp	Acuosa y/o sanguinolenta	Sí	Sí
<i>Vibrio</i> spp	Acuosa, coleriforme	No	No
<i>Staphylococcus</i> (enterotoxina estafilocócica)	Acuosa	No	No
<i>Clostridium difficile</i> (enterotoxina)	Acuosa con o sin sangre y/o pus	Sí	Sí
Virus (rotavirus, adenovirus, astrovirus, picorna virus, calicivirus)	Acuosa	No	No

Cuadro 8: Agentes bacterianos y virales que más frecuentemente causan diarrea.

- Sembrar cada muestra en:
 1. Placas de Agar Mac Conkey Lactosa (McL) y uno o más de los siguientes:
 2. Placas de Agar *Salmonella-Shigella* (SS).
 3. Placas de Agar Hektoen (HE).



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

4. En caso de sospecha de brote puede utilizarse caldo Tetratonato suplementado con 200 µl de solución yodada: para el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* sp.
 - Se realiza una toma con ansa de la zona más representativa de la muestra (aquella que tenga sangre, mucus o pus). O se descarga el contenido del hisopo que viene en Cary-Blair.
 - Se realiza una descarga en la zona 1, luego quemando el ansa o cambiando de ansa si se trabaja con ansas descartables, se continúa la siembra por cuadrantes.
 - También puede realizarse una suspensión con suero fisiológico de la toma con ansa y luego sembrar por cuadrantes.
 - A un tubo de 10 ml de tetratonato agregar 1 gramo o 1 ml de suspensión de materia fecal o el contenido del hisopo.
 - Incubar las placas y caldo de enriquecimiento durante 24 horas, en aerobiosis, a 35°C – 37°C.
 - La lectura a las 24 horas resulta imprescindible para evitar el sobrecrecimiento de otros microorganismos presentes en la muestra, el aumento desmedido del poder inhibitorio de los medios selectivos y la correcta interpretación de la fermentación de azúcares (algunas especies bacterianas pueden virar después de 24 horas).
 - Estudiar por separado entre 3-5 colonias sospechosas de *Salmonella* sp. o *Shigella* sp. aisladas desde las placas de cultivo primario (numerar de 1 a 5). Obtener un cultivo puro.
 - Las colonias sospechosas de *Shigella* sp. son lactosa negativas y se ven transparentes en McL y SS o verdes/azules en HE.
 - Las colonias sospechosas de *Salmonella* sp son lactosa negativas y H₂S+; y se ven transparentes en McL, transparentes con precipitado negro en el centro en SS, y verdes/azules con precipitado negro en el centro en HE.
 - También pueden identificarse colonias sospechosas de *Yersinia* sp. como colonias pequeñas, puntiformes a las 24 horas, lactosa negativas, que se ven transparentes en McL y SS.
 - Caldo Tetratonato.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

A las 12-24 horas de incubación, reaislar en placas de SS, HE y McL. Repicar las colonias sospechosas de *Salmonella* sp y proceder de la misma forma que con el cultivo primario, continuando con la numeración consecutiva de cada colonia.

Las colonias sospechosas de *Salmonella* y *Shigella* se identifican presuntivamente mediante pruebas bioquímicas. Se eligen cinco colonias sospechosas (si las hubiere) y cada una se siembra en el siguiente orden:

- i. Citrato de Simmons: estría en superficie.
- ii. Agar con triple azúcar y hierro (*Triple Sugar Iron*, TSI): siembra en profundidad y superficie.
- iii. Agar con hierro y lisina (*Lysine Iron Agar*, LIA): siembra en profundidad y superficie.
- iv. Medio para movilidad, indol y ornitina (*Motility Indol Ornitin*, MIO): insertar la punta en el centro hasta los 2/3 de profundidad. La producción de indol en el tubo de MIO se revela, después de la incubación, con 100 µl de reactivo Kovacs.
- v. Agar fenilalanina: siembra en superficie. La presencia de la enzima fenilalanina deaminasa se detecta con una solución acuosa de Cloruro férrico.

Si el resultado de las bioquímicas es compatible con el aislamiento de *Shigella* sp., *Salmonella* sp., o *Yersinia* sp. se realiza identificación completa y estudio de susceptibilidad antibiótica.

Identificación serológica: Los aislamientos identificados como *Shigella* sp. se aglutinan con los sueros anti-antígeno somático (O) para la identificación de especie.

- i. Grupo A: *Shigella dysenteriae*
- ii. Grupo B: *Shigella flexneri*
- iii. Grupo C: *Shigella boydii*
- iv. Grupo D: *Shigella sonnei*

Los aislamiento identificados como *Salmonella* sp. se aglutinan con un suero polivalente contra el antígeno somático O para confirmación de género.

En el caso de Uruguay todos los aislamientos de probables *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. son enviados al Depto. de Laboratorios del Ministerio de Salud Pública para su confirmación.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Investigación de *Campylobacter* sp.

Examen directo: Teñir con tinción de Gram modificada donde en último paso se utiliza fucsina en vez de safranina. Se busca la presencia de bacilos Gram negativos de morfología curva o en forma de gaviota, característicos de *Campylobacter* sp. Esta técnica tiene una sensibilidad reportada entre 60 a 90 % y puede ser de utilidad.

Detección antigénica: Para la investigación de *Campylobacter* sp. puede utilizarse test de detección de antígenos directamente en la muestra de heces. Seguir las indicaciones del fabricante.

Cultivo: se realizará en agares selectivos para *Campylobacter* sp., la incubación se hace en atmósfera microaerófila y a 42°C por 72 horas. En agar Campy CVA (cefoperazona, vancomicina, anfotericinaB) las colonias sospechosas de *Campylobacter* sp. son grises, puntiformes, chatas o mucoides.

Realizar coloración de Gram para confirmar la morfología curva o en forma de gaviota y test de la oxidasa que deberá ser positiva.

El personal entrenado puede buscar en examen directo de la materia fecal.

Investigación de *Clostridium difficile*

Para el diagnóstico microbiológico de *C. difficile* se recomienda la utilización de un algoritmo de 2 o 3 pasos dependiendo las posibilidades de cada laboratorio.

En primer lugar se realiza un test de screening para la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) por enzoinmunoanálisis (EIA). Estos tienen una alta sensibilidad y un alto valor predictivo negativo por lo que si son negativos se descarta la infección por *C. difficile*. Si dan positivos se debe realizar un test confirmatorio. Puede utilizarse un test de un EIA para la detección de toxinas A y B que si es positivo confirma la ICD y si es negativo se recomienda realizar un test de biología molecular para la detección de toxina B. Otra opción es pasar directamente de la GDH a la biología molecular. Para la realización de estas técnicas referirse a las recomendaciones del fabricante.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Puede aislarse *C. difficile* en medios selectivos como el CCFA (cicloserin cefoxitin fructosamina agar) pero esto no se realiza de rutina en los laboratorios clínicos.

Informe de resultados

Se reportará la visualización o no de leucocitos fecales. Alternativamente la presencia o ausencia de lactoferrina fecal.

Negativos

En caso de no identificar ningún agente etiológico se informa: No desarrolla *Salmonella* ni *Shigella*. En caso de haber buscado *Campylobacter*: No desarrolla *Salmonella*, *Shigella* ni *Campylobacter*.

Si en los medios selectivos no hay desarrollo bacteriano agregar el comentario: “La ausencia de flora intestinal sugiere que el paciente está bajo tratamiento antibiótico”.

Positivos

Indicar la identificación de cualquiera de los patógenos mencionados anteriormente.

Agregar comentario: La cepa será enviada a Laboratorio de Referencia para confirmar la identificación de la misma.

El informe se acompañará de **antibiograma** para *Shigella* y casos seleccionados de *Salmonella*. En la mayoría de los casos de infección entérica por *Salmonella* no está indicado el tratamiento antibiótico porque prolonga el estado de portador y lleva a un mayor índice de recaídas. Se realiza antibiograma para *Salmonella* cuando se trata de *Salmonella* serovar *typhi*, el aislamiento también está presente en orina o en otro sitio normalmente estéril, niño menor de 6 años y a pedido del médico tratante.

En el caso de la investigación de *C. difficile* se informarán los resultados para GDH y toxinas como positivo o negativo aclarando la técnica utilizada (inmunocromatográfico, enzimoimmunoanálisis, PCR). En caso de un resultado positivo agregar el comentario: Se recomiendan medidas de aislamiento de contacto.



13.2 Condiciones de transporte y conservación de muestras clínicas para estudio bacteriológico

Muestra o espécimen	Envase o medio de transporte	Tiempo y temperatura de transporte	Tiempo y temperatura de conservación	Observaciones
Hemocultivos	Botellas o frascos	≤ 2 hs, TA	-	
Punta de catéter IV	Tubo estéril	≤ 15 min, TA	≤ 24 hs, 4°C	
Orina	Frasco estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	
LCR	Tubo estéril	≤ 15 min, TA	≤ 24 hs, TA	<i>S. pneumoniae</i> , pueden lizarse a partir de una hora tras su recogida. Nunca deberá refrigerarse pues se puede afectar la viabilidad de <i>N. meningitidis</i> y <i>H. Influenzae</i> .
Líquidos biológicos	Tubo estéril	≤ 15 min, TA	≤ 24 hs, TA	
Exudado nasal	Hisopo con medio transporte	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	
Exudado faríngeo	Hisopo con o sin medio transporte	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	
Senos paranasales.	Tubo estéril			
Conducto auditivo externo	Hisopo con o sin medio de transporte	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	
Oído medio	Tubo estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	
Exudado conjuntival	Hisopos con o sin medio de	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

	transporte			
Raspado corneal	Inoculación directa	≤ 15 min, TA	-	
Expectoración	Frasco estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	
Secreciones traqueales	Frasco estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	
Lavado bronquioalveolar	Frasco estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	
Heridas abiertas	Fluido en tubo estéril o hisopo con o sin medio de transporte	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	
Abscesos cerrados	Tubo estéril	≤ 2 hs, TA	≤ 24 hs, TA	
Biopsias y tejidos	Tubo o frasco estéril	≤ 15 min, TA	≤ 24 hs, TA	
Coprocultivo	Frasco o tubo con <i>Cary Blair</i>	Preservada: ≤ 24 hs, TA Sin preservar: ≤ 1 hs, TA	≤ 48 hs, 4°C ≤ 24 hs, 4°C	
Investigación de <i>C. difficile</i>	Frasco	≤ 1 hs, TA	≤ 24 hs, 4°C	

TA: temperatura ambiente; IV: intravenoso; LCR: líquido cefalorraquídeo.

Agradecimientos

Los apartados Importancia del tema, Normas básicas generales y Criterios de rechazo del presente Manual están tomados y adaptados del Manual de toma de muestras del Departamento de Laboratorio de Patología Clínica que publicó la Organización Panamericana de la Salud en 2004. Agradecemos profundamente a todos los autores de dicho Manual, quienes iniciaron esta importante tarea.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

Referencias

1. Manual de toma de muestras para estudio bacteriológico, parasitológico y micológico. Depto. de Laboratorio Clínico de Hospital de Clínicas. OPS, 2004. Disponible en:
<http://www.bvsops.org.uy/pdf/laboratorio.pdf>
2. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis* 2013;57:e22-e121.
3. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:1-45.
4. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter E, Goodman KM, Torgerson C, Harmsen WS, Schleck CD, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis* 2004;38(12):1724-30.
5. Consenso SADI-SATI-INE-ADECI. Guía para el manejo racional de la antibioticoterapia en la Unidad de Terapia Intensiva - Parte II. *Rev Panam Infectol* 2008;10(4):71-82.
6. Raad I, Hanna HA, Alacech B, Chatzinikolaou I, Johnson MM, Tarrand J. Differential Time to Positivity: A Useful Method for Diagnosing Catheter-Related Bloodstream Infections. *Ann Intern Med* 2004;140:18-25.
7. Petti CA, Woods CW, Reller LB. *Streptococcus pneumoniae* Antigen Test Using Positive Blood Culture Bottles as an Alternative Method To Diagnose Pneumococcal Bacteremia. *J Clin Microbiol* 2005;43:2510-2512.
8. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, et al. Evaluation of the FilmArray blood culture identification panel: results of a multicenter controlled trial. *J Clin Microbiol* 2016;54:687-698.
9. Bhatti MM, Boonlayangoor S, Beavis KG, Tesic V. Evaluation of FilmArray and Verigene systems for rapid identification of positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2014;52:3433-3436.



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

10. Romero-Gómez MP, Quiles-Melero I, Navarro C, et al. Evaluation of the BinaxNOW PBP2a assay for the direct detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* from positive blood culture bottles. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;72:282-284.
11. Seija V; Palacio R; Legnani M; Bazet C. Valor diagnóstico del Test Binax NOW para detectar la etiología neumocócica en la Neumonía Aguda Comunitaria del adulto. *Archivos de Medicina Interna* 2007;1:21-26.
12. Caiata L; Barone N; Palacio R; Seija V. Utilidad de la detección de antígeno neumocócico en orina en un hospital universitario. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica* 015;62:256-261.
13. Jiménez-Mejías ME, García-Cabrera E. Infecciones relacionadas con los sistemas de drenaje de líquido cefalorraquídeo. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(4):240-51.
14. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006;55(Suppl 6):vi1-vi12.
15. Rosa Sacsquispe Contreras y Gladis Ventura Egúsqiza. Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias. Laboratorio de Bacteriología Especial, Centro Nacional de Laboratorios en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Perú. Disponible en: <http://spe.epiredperu.net/seihh/12%20manual%20procedimientos%20bacteriologicos%20iih.pdf>
16. Clinical Microbiology Procedures Handbook – Volume 1, 2016. Fourth Edition. ASM Press, Washington DC.
17. Manual Recogida y Envío de Muestras. Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Clínico de San Carlos, 2010, Madrid, España.
18. Wong L, Barry A, Horgan S. Comparison of six Different Criteria for Judging the Acceptability of Sputum Specimens. *J Clin Microbiol* 1982;16:627-631.
19. American Thoracic Society Documents. Guidelines for the Management of Adults with Hospital-acquired, Ventilator-associated, and Healthcare-associated Pneumonia, 2004.
20. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Normas y guía técnica. Organización Panamericana de la Salud, 2008.

NUEVA
EDICIÓN
2018

INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DIARIA

CURSO
ONLINE

18 DE ABRIL - 13 DE JUNIO 2018 - ATBgrama2018.evimed.net



redEMC
Infectología



EUCAST



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

GESTIÓN EDUCATIVA,
INFORMATIVA Y LOGÍSTICA



evimed

21. Baron EJ and Thompson RB. Specimen collection, transport and processing: Bacteriology. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, 2010.
22. Warnke P, Warning L, Podbielski A. Some Are More Equal - A Comparative Study on Swab Uptake and Release of Bacterial Suspensions. *PLoS ONE* 2014;9(7):e102215.
23. Rea-Neto A, Cherif M, Youssef N, Tuche F, Brunkhorst F, Ranieri VM, Reinhart K and Sakr Y. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: a systematic review of the literature. *Critical Care* 2008,12:R56. Disponible en: <http://ccforum.com/content/pdf/cc6877.pdf>
24. Drent M, et al. Interpretation of bronchoalveolar lavage fluid cytology. Disponible en: http://www.pul.unimaas.nl/theses/bal_cd.pdf
25. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, Edwards JE, et al. Guías de práctica clínica para el manejo de la candidiasis: actualización, del 2009, de la Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;48:T1-T35.